

III Fórum de Jovens Pesquisadores



PREFÁCIO

A Sociedade Brasileira de Hepatologia orgulha-se de apresentar a todos os seus membros este exemplo de incentivo ao trabalho científico em nosso país: o Fórum do Jovem Pesquisador, em sua terceira edição.

De acordo com o formato do Fórum os sócios são convidados a enviar seus trabalhos científicos em desenvolvimento final ou recentemente concluídos. Além do jovem que desenvolve a tarefa prática clínica ou experimental, também o seu orientador deve comparecer ao Fórum, para enriquecimento da discussão. Não há aulas ou palestras, apenas a apresentação e a discussão dos trabalhos científicos durante um dia inteiro. Os “convidados” são os jovens pesquisadores e seus orientadores, patrocinados pela SBH com passagem e diária de hotel. Na montagem do Fórum são escolhidos eméritos professores gabaritados para formar bancas de três especialistas. Cada grupo discute de seis a sete trabalhos, nos períodos da manhã e da tarde, completando um total de 26 trabalhos analisados em profundidade, avaliados e debatidos pelas bancas e pela plateia. As coordenadoras do Fórum, em comum acordo com a Diretoria da SBH, elegem dois ou três professores, não comprometidos com qualquer dos trabalhos apresentados, para formar a comissão julgadora final. Essa comissão desenvolve o trabalho de analisar as pontuações iniciais e a apresentação dos autores e, juntamente com as avaliações e a arguição dos especialistas, faz a escolha dos três melhores trabalhos, que recebem menção honrosa. O primeiro colocado recebe também um prêmio em dinheiro.

Neste terceiro Fórum, recebemos 59 trabalhos, e os resumos de todos eles estão aqui publicados. Iniciamos pelos três ganhadores, seguindo com os outros 23 selecionados para apresentação. No final, o índice dos respectivos autores, como nos foi enviado.

As pesquisas aqui apresentadas, todas versando sobre hepatologia, contribuem para o desenvolvimento da ciência médica em nosso país. Acreditamos que sua divulgação estimule os jovens pesquisadores a dedicar-se ao estudo das doenças do fígado.

Diretoria da SBH

III FÓRUM JOVENS PESQUISADORES

TRABALHOS PREMIADOS

1º

Estudo randomizado e duplo cego com uso de difosfato de cloroquina para a manutenção de remissão da hepatite autoimune após a suspensão da imunossupressão

Débora Raquel Benedita Terrabuio. Orientador: Flair José Carrilho.

Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, SP, Brasil.

Introdução: A Hepatite autoimune (HAI) é uma doença hepática crônica, com resposta favorável ao uso de corticosteróides imunossupressores. **Objetivo:** Atingir a normalização bioquímica e ter atividade inflamatória mínima ou ausente na biópsia hepática. A recidiva após suspensão do tratamento ocorre em 50-86% dos pacientes e nos casos de múltiplas recidivas, há maior risco de evolução para cirrose hepática, óbito por doença hepática e transplante hepático em comparação com a remissão sustentada da doença. A manutenção da imunossupressão em longo prazo diminui o risco de recidiva, entretanto 10-30% dos pacientes apresentam efeitos colaterais relacionados ao corticóide e azatioprina com necessidade de ajuste da dose ou suspensão do tratamento. O difosfato de cloroquina (CQ) é um antimalárico utilizado com boa resposta em doenças reumatológicas que foi utilizado em monoterapia por mais de dois anos para manutenção da remissão na HAI em estudo aberto; aqueles que usaram a medicação tiveram risco de recidiva 6,49 vezes menor quando comparados a um controle histórico (72,2% X 23,5%; $p = 0,031$). O objetivo desse estudo foi investigar se a cloroquina previne a recidiva da HAI em estudo duplo cego, randomizado, avaliar se há uma subpopulação de pacientes que mais se beneficiaria com seu uso e seu perfil de segurança. **Metodologia:** Sessenta e um pacientes (53 mulheres), idade média de $38,1 \pm 16,4$ anos, ([85,3% HAI-1]; 23,3% com positividade do anti-SLA/LP, 56,7% com fibrose avançada [F3/4] na inclusão no estudo), com diagnóstico provável ou definitivo de HAI, em remissão histológica, foram randomizados de forma aleatória e duplamente cega para receber CQ 250 mg/d ou placebo, durante 36 meses ou até aparecimento de efeitos colaterais ou recidiva da doença. Durante o primeiro mês o paciente fez uso da droga em combinação com o esquema imunossupressor que induziu a remissão histológica; a partir de então foi feito o desmame semanal de 2,5mg da prednisona e a suspensão imediata da azatioprina e o paciente permanecia em uso de CQ ou placebo até completar 36 meses. A análise de sobrevida (período livre de recidiva) foi realizada por regressão simples de Cox, as variáveis com valor de $P < 0,10$ foram inseridas no modelo de regressão múltipla de Cox, com o tratamento como co-variável fixa. Para investigar o subgrupo com maior benefício com o uso da cloroquina foi realizada regressão simples de Cox estratificada, conforme a detecção do anticorpo anti-SLA/LP. As variáveis categóricas foram avaliadas por meio do teste exato de Fisher e as variáveis contínuas pelo teste Mann-Whitney. O programa utilizado os cálculos foi o R, versão 3.0.2 (R Core Team, 2013). **Resultados:** Trinta e um pacientes receberam CQ e 30 de placebo. Não houve diferenças entre os dois grupos em relação aos achados clínicos, laboratoriais e histológicos e imunossupressão que induziu a remissão histológica (Tabela 1). Também não houve diferença no que se refere ao perfil de HLA. A mediana do tempo de utilização da CQ / placebo foi de 325 dias (22-1275), significativamente mais baixa no grupo placebo ($p = 0,043$). A porcentagem de recidiva da HAI nos usuários de CQ foi significativamente menor quando comparada ao do grupo placebo, (39,3 X 69%, $p = 0,021$). Na regressão simples de Cox, os fatores que se associaram com a recidiva da HAI foram uso placebo, positividade do anticorpo anti-SLA/LP, presença dos HLAs DR3 e DR8. A presença do HLA DR17 resultou em tendência de maior risco de recidiva ($p=0,052$) e a presença do HLA DQ06 em tendência de menor risco ($p=0,085$). Na regressão múltipla de Cox, os fatores relacionados a maior risco de recidiva da HAI foram o uso de placebo

(Razão de risco= 2,41 (IC 95%:1,15- 5,06); $p=0,02$) e a positividade do anticorpo anti-SLA/LP (Razão de risco=3,04 (IC 95%:1,43-6,45); $p=0,004$). No grupo anti-SLA(+) (N=14) a taxa de recidiva foi de 50% com CQ X 100% placebo ($p=0,055$). Quando se tentou estabelecer a relação entre a reatividade do anti-SLA/LP e a droga utilizada isoladamente, observou-se que no grupo anti-SLA/LP (-), quem usou CQ teve 2,03 (IC 95%: 0,83 – 5) menos risco de recidiva. No grupo anti-SLA/LP (+) o uso de cloroquina se associou com redução do risco de recidiva de 2,65 vezes (IC 95%: 0,7 – 10,05). A interação entre tratamento e reatividade do anticorpo anti-SLA/LP não foi estatisticamente significativa ($P = 0,99$). Após a suspensão da medicação no término do estudo, 5/12 (41,6%) pacientes do grupo CQ apresentaram recidiva da doença, comparado com nenhum paciente do grupo placebo (0/4); sendo a sobrevida livre de recidiva em seis meses para o grupo CQ foi de 60% (IC 95%: 42% -86%) enquanto para o grupo Placebo foi 100% ($p=0,03$). Os pacientes com CQ tiveram mais efeitos colaterais (61,3% X 16,7%; $p = 0,001$), com taxas semelhantes de suspensão do tratamento (22,6% CQ X 10% placebo; $p=0,3$). Os efeitos colaterais mais comuns foram dermatológicos (prurido e escurecimento da pele, $n = 10$ (32,25%), ambos reversíveis após a retirada da droga). **Conclusões:** A cloroquina reduziu, com segurança, o risco de recidiva de HAI. Parece que a cloroquina teve um melhor desempenho no grupo anti-SLA positivo, mas isso deve ser confirmado com um tamanho de amostra maior.

Tabela 1. Características clínicas, bioquímicas, sorológicas, histológicas e terapêuticas dos pacientes distribuídos nos grupos de estudo.

Parâmetros	Cloroquina N = 31 (%)	Placebo N = 30 (%)	Valor P
Gênero feminino (n)	26	26	1
Idade (anos) na inclusão do estudo (média ± DP)	37,7 ± 16,1	39,1 ± 16,9	0,80
Tipo de HAI			0,27
HAI tipo 1	28 (90,3)	24 (80)	
HAI tipo 2	1 (3,2)	0 (0)	
HAI tipo 3 (anti-SLA/LP isolado)	1 (3,2)	2 (6,7)	
HAI sem marcador	1 (3,2)	4 (13,3)	
Anti-SLA/LP n(%) ¹	6 (20)	8 (26,7)	0,76
Cirrose hepática ao diagnóstico ²	50	64,3	0,42
Fibrose avançada na inclusão do estudo (E3/E4) ³	18 (58)	16 (53,3)	0,795
Hipertensão arterial sistêmica	3 (9,7)	5 (16,7)	0,47
Diabetes mellitus (%)	4 (13)	5 (16,7)	0,73
Imunossupressão na remissão histológica			
Azatioprina (média ± DP – mg/dia)	90,7 ± 26,6	97,5 ± 22,1	
Prednisona (média ± DP – mg/dia)	8,5 ± 2,8	8,9 ± 2,1	
Níveis normais de gamaglobulina na inclusão % ⁴	64,5 (20)	76,7 (23)	0,40

1) Em 60 pacientes 2) N=56; estadiamento conforme consenso das Sociedades Brasileiras de Patologia e Hepatologia 3) N=60 4) Valor dentro da faixa de normalidade.

2º

Antivirais de ação direta para tratamento de hepatite C crônica: avaliação da toxicidade genética

Carina Sperotto Librelotto¹, Rafael Rodrigues Dhl¹. Orientadores: Mário Reis Álvares-da-Silva^{2,3}, Daniel Simon¹

1. Universidade Luterana do Brasil, Canoas, RS.
2. Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS.
3. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

Introdução: A infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) atinge aproximadamente 3% da população mundial, sendo em muitos países, a principal causa de morte relacionada a problemas hepáticos devido à dificuldade de realizar transplante. O principal objetivo da terapia farmacológica

para a hepatite C crônica é a erradicação do vírus, que é caracterizada pela ausência de RNA viral três a seis meses após o término da terapia (RSV, resposta virológica sustentada). Por muitos anos, a terapia foi baseada na combinação de interferon-alfa peguado e ribavirina, por um longo período de tempo (48 a 72 semanas). Um melhor entendimento sobre o ciclo replicativo do HCV permitiu a identificação de novos alvos terapêuticos e assim, surgiram os antivirais de ação direta (DAAs, *directly acting antivirals*). Estes antivirais atuam diretamente no HCV, interrompendo a sua replicação, o que torna o tratamento muito mais eficaz (RSV de 85 a 95%), em um menor período de tempo (12 a 24 semanas), a partir de esquemas livres de interferon e/ou ribavirina. Dentre os principais DAAs aprovados que fazem parte dos esquemas terapêuticos mais atuais no tratamento da hepatite C no Brasil estão os fármacos sofosbuvir, simeprevir e daclastavir. Atualmente, as evidências científicas sobre os principais efeitos dos DAAs são baseadas em resultados de diferentes estudos clínicos, mas, devido à escassez de informações a respeito da genotoxicidade dos DAAs em estudos pré-clínicos, torna-se importante avaliar os potenciais efeitos genotóxicos dos DAAs disponíveis. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a genotoxicidade do sofosbuvir (sozinho e associado à ribavirina), do simeprevir e da ribavirina. **Materiais e métodos:** A avaliação da genotoxicidade foi realizada utilizando o teste de micronúcleo *in vitro* com bloqueio da citocinese (CBMN, *cytokinesis-block micronucleus assay*) em células de hepatocarcinoma humano (HepG2). O teste CBMN é um teste que avalia mutações cromossômicas e permite que as células expostas ao tratamento sejam avaliadas quanto a eventos citotóxicos (necrose e apoptose), a cinética celular por meio do índice de proliferação com bloqueio da citocinese (CBPI, *cytokinesis-block proliferation index*) e danos cromossômicos resultantes de fragmentação ou perda de cromossomos, originados por eventos clastogênicos ou aneugênicos (micronúcleos, pontes nucleoplasmáticas e brotos nucleares). As células HepG2 são células de hepatocarcinoma humano e por possuírem sistema completo de metabolização são amplamente utilizadas em estudos que envolvem a toxicidade de fármacos e xenobióticos. Para a realização dos experimentos, as células foram semeadas em placas de 24 poços com densidade de 1×10^5 células. Primeiramente, as células foram tratadas com sofosbuvir (0,011, 0,023, 0,047, 0,094, 0,188, 0,377, 0,755 e 1,511 mM), simeprevir (0,02, 0,05, 0,10, 0,15, 0,20 e 0,25 mM) e ribavirina (0,062, 0,125, 0,25, 0,5, 1, 2, 4 e 8 mM) de forma independente por 24 horas. Para o tratamento combinado, um segundo experimento foi realizado e as células foram tratadas com seis combinações de diferentes concentrações de ribavirina e sofosbuvir (0,250 mM RBV + 0,094 mM SOF; 0,5 mM RBV + 0,188 mM SOF; 1 mM RBV + 0,377 mM SOF; 2 mM RBV + 0,755 mM SOF; 4 mM RBV + 1,511 mM SOF; 0,945 mM RBV + 1,511 mM SOF) também por 24 horas. Em ambos os experimentos, o controle negativo foi DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle's Medium*) com DMSO (dimetilsulfóxido), e o controle positivo foi o benzopireno. Após as 24 horas de tratamento, a citocalasina B foi adicionada e após 72 horas foi realizada a coleta das células por citocentrifugação em lâminas de vidro. Para avaliar a citotoxicidade foram contadas 500 células por lâmina classificando-as em mononucleadas, binucleadas e multinucleadas, células necróticas e apoptóticas. Para avaliar a cinética celular apenas foi considerada a contagem de 500 células por lâmina classificando-as em mononucleadas, binucleadas e multinucleadas. Já para a avaliação de alterações cromossômicas foram analisadas 1.000 células binucleadas, quantificando a presença de micronúcleos (MNs), pontes nucleoplasmáticas (NPBs) e brotos nucleares (NBUDs). Para a análise estatística foi utilizado o teste Mann-Whitney U e foram considerados resultados estatisticamente significativos valores de $p < 0,05$. **Resultados:** Os resultados demonstraram que não houve diferenças estatisticamente significativas com relação aos parâmetros de morte celular, através da visualização de células necróticas e apoptóticas, demonstrando ausência de efeitos citotóxicos associados ao sofosbuvir e a ribavirina. Entretanto, os resultados demonstraram citotoxicidade do simeprevir em todas as concentrações testadas não sendo possível avaliar o CBPI e danos cromossômicos. Não foram observados resultados significativos para o CBPI, demonstrando a ausência de efeitos citostáticos associados ao sofosbuvir, mas resultados estatisticamente significativos foram observados com a ribavirina em seis concentrações testadas (0,25, 0,5, 1, 2, 4 e 8 mM). Não foi observado aumento de danos ao DNA nas diferentes concentrações do sofosbuvir testadas. Entretanto, para a ribavirina, cinco concentrações (0,25, 0,5, 1, 2 e 4 mM) apresentaram resultados estatisticamente significativos com relação à frequência de micronúcleos quando comparados com o controle negativo. O tratamento combinado com sofosbuvir e ribavirina não demonstrou resultado estatisticamente significativo nas seis combinações testadas para os efeitos citotóxicos e danos ao DNA, mas resultados significativos foram observados para o CBPI em quatro combinações, demonstrando a presença de efeitos citostáticos da combinação das duas drogas. **Conclusão:** A partir dos dados apresentados podemos concluir que a ribavirina apresentou genotoxicidade

avaliada pelo teste de CBMN. Por outro lado, o sofosbuvir não apresentou genotoxicidade nas concentrações analisadas. A combinação de ribavirina e sofosbuvir não apresentou resultados significativos para a genotoxicidade, mas efeitos citostáticos foram observados através do CBPI. O simeprevir foi citotóxico em todas as concentrações analisadas, e novos testes com concentrações menores serão realizados. A genotoxicidade da ribavirina já havia sido demonstrada em outros estudos, mas, vale ressaltar, que este é o primeiro estudo que avalia seu potencial genotóxico, sozinho e combinado com o sofosbuvir, utilizado a linhagem celular HepG2, uma linhagem celular hepática de origem tumoral, amplamente utilizada como modelo em estudos de toxicidade, genotoxicidade e modo de ação de fármacos.

3^o

Prevalência de variantes associadas à resistência aos inibidores de protease em hemodialisados e transplantados renais com infecção pelo vírus da hepatite C

Rita Chelly Felix Tavares. Orientador: Maria Lúcia Gomes Ferraz.

Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo (EPM/UNIFESP), SP, Brasil.

Introdução: Os inibidores da protease NS3 (IPs) foram os primeiros antivirais específicos para o tratamento do vírus C (HCV). A combinação dos IPs de segunda onda com outras drogas de ação direta permitiu a utilização de regimes de tratamento Interferon *free* (IFN-*free*) para pacientes com doença renal crônica (DRC) dialítica e transplantados renais (TxR), populações com limitações ao uso do IFN e ribavirina (RBV). Porém, a ocorrência de variantes associadas à resistência (RAVs) aos IPs, tanto basais quanto induzidas pela terapia, têm resultado na falência de muitas estratégias de tratamento. **Objetivos:** Estimar a prevalência das RAVs aos IPs e especialmente aos de segunda onda e do polimorfismo Q80K em pacientes com DRC em hemodiálise (HD) e TxR infectados pelo HCV e determinar a associação dessas mutações com os subtipos do GT1, tratamentos prévios para HCV e com variáveis epidemiológicas e clínicas. **Metodologia:** estudo transversal quantitativo, realizado por meio de entrevista, revisão de prontuário e coleta de soro. Foram incluídos pacientes infectados pelo HCV com DRC em HD e TxR portadores do HCV- GT1. Realizada amplificação e sequenciamento da região NS3 do HCV com sequenciador automático ABI 3500. As sequências foram analisadas quanto à presença de substituições previamente identificadas, capazes de conferir resistência aos IPs de primeira e segunda onda. Os dados foram analisados através do SPSS. **Resultados:** O sequenciamento direto da protease NS3 foi realizado em 67 pacientes (32 HD e 35 TxR). As RAVs aos IPs foram encontradas em 18% dos pacientes, com seguinte distribuição: V55A (9%), V36L (1,5%), T54S (1,5%), S122N (1,5%), I170L (1,5%), M175L (1,5%) e apenas 1,5% dos pacientes apresentava polimorfismo Q80K. A frequência dessas RAVs foi duas vezes maior no HCV-GT1a (25%) em relação ao HCV-GT1b (9,7%), embora sem diferença estatística. As RAVs foram detectadas em 20% de pacientes virgens de tratamento e em 15,6% dos experimentados a Peg-IFN+RBV ($p=0,64$). Em adição, não se detectou nenhuma RAV que conferisse alta resistência aos IPs. **Conclusão:** O polimorfismo Q80K foi infrequente na população de pacientes em HD e TxR. Embora o achado de RAVs tenha sido frequente nesta população, com predomínio no HCV-GT1a, a maioria das RAVs encontradas apresenta baixo poder inibitório aos IPs e estão relacionadas aos IPs de primeira onda, facilitando o uso dos IPs de segunda onda na população estudada.

TRABALHOS SELECIONADOS

DHGNA / DOENÇA AUTOIMUNE

Debatedores: Claudia Pinto Marques Souza Oliveira (SP), Edison Roberto Parise (SP), Helma Pinchemel Cotrim (BA)

Eritrócitos modificados pelo estresse oxidativo: um biomarcador para doença hepática gordurosa não-alcoólica

Yanaihara Pinchemel Amorim de Oliveira. Orientador: Helma Pinchemel Cotrim.

Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia (UFBA), BA.

Introdução: A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) tem amplo espectro e inclui a esteatose, esteatoepatite (NASH), cirrose e carcinoma hepatocelular. Distinguir esteatose de NASH tem sido um desafio e a biópsia de fígado é atualmente o único método capaz de estadiar a DHGNA. Biomarcadores têm sido propostos para avaliação dessa doença e entre eles o de estresse oxidativo (EOX), pela sua relevante participação na patogênese e evolução da DHGNA. Os eritrócitos possuem metabolismo antioxidante e pró-oxidante e quando cruzam microambiente onde existe uma intensa produção de *Reactive Oxygen Species* (ROS) podem provocar danos oxidativos com alterações morfológicas. Por isso eritrócitos modificados são potentes candidatos para monitorar condições clínicas associadas ao EOX. **Objetivo:** Avaliar a relevância de eritrócitos modificados pelo EOX como biomarcadores no diagnóstico diferencial entre esteatose e NASH. **Pacientes e métodos:** Estudo de corte transversal, que incluiu pacientes obesos graves com IMC $\geq 35 \text{ Kg/m}^2$ que se submeteram à cirurgia bariátrica e biópsia hepática no período de setembro/2013 a abril/2014 com diagnóstico histológico de DHGNA. Esses foram classificados em G1: pacientes com esteatose; G2: pacientes com NASH; o G3 foi composto de voluntários saudáveis para comparação. O consumo de álcool ($\geq 20 \text{ g / dia}$) e outras doenças do fígado foram excluídos em todos os pacientes. A produção de ROS foi avaliada em sangue total fresco em todos os grupos de pacientes e controle e mensurada por quimioluminescência em tempo real, utilizando um contador de fótons sensível. Foi avaliado um modelo *in vitro*, representado pela exposição de eritrócitos ao ROS que poderia mimetizar a condição *in vivo* de DHGNA. Os eritrócitos não tratados foram considerados controles negativos. Os esfregaços sanguíneos foram fixados e corados para visualização por microscopia óptica. As biópsias hepáticas foram avaliadas por um único patologista e o diagnóstico histológico foi realizado de acordo com *NASH Clinical Research Network* (Brunt EM et al/2011). Análises Estatísticas: as variáveis contínuas foram apresentadas como média \pm desvio padrão ou mediana (Md) e interquartil (IQR) quando as variáveis não tiveram uma distribuição normal. Para comparação de variáveis contínuas entre dois grupos, o teste *T Student* ou *Mann-Whitney* foram usados. O valor de $p < 0.05$ foi considerado significativo. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Bahia – UFBA, Salvador - Bahia e todos os pacientes e controles assinaram o consentimento para participar da pesquisa. **Resultados:** A amostra incluiu 18 voluntários saudáveis e 37 pacientes obesos graves. A média de idade nos casos e controle foi 36,7 (DP=9,8) e 45,7 (DP=9,9) anos respectivamente. A média de IMC em pacientes foi 43,3 (DP= 3,9) kg/m^2 e 51,4% são homens. Esteatose foi observada em 43,2% (16) dos pacientes e NASH em 57% (21). Quando comparados os grupos, os resultados mostraram níveis de ROS maiores no G2 em relação ao G1 e controle [Md₁: 11621 (IQR:954-30033) versus Md₂: 2485 (IQR:1206-5564) versus Md₃:201 (IQR: 111-259) fótons, $p < 0,001$]. Eritrócitos modificados pelo EOX foram encontrados no sangue periférico em 70% dos G1 (Figura 1a) e em 86% do G2 (Figura 1b), tais como equinócitos, esferócitos, "cup-shape" e foram comparados com eritrócitos 100% normais do grupo controle (Figura 1c). No modelo *in vitro*, as mesmas alterações eritrocitárias foram observadas em 63%

dos pacientes (Figura 1d) ($p < 0,001$). **Conclusões:** Os resultados sugerem que eritrócitos modificados pelo estresse oxidativo podem ser biomarcadores de fácil determinação para distinguir esteatose de NASH e colaborar na seleção de pacientes obesos com DHGNA antes da cirurgia bariátrica.

Eficácia do sorafenib no modelo animal misto de carcinoma hepatocelular secundário à esteatoepatite não-alcoólica: avaliação por tomografia com emissão de pósitrons com 18F-FDG e análise histológica

Costa FGB¹, Stefano JT¹, Levy CS¹, Torres MM¹, Machado CML¹, Faria DP¹, Carneiro CG¹, Veloso I², Buchpiguel CA¹, Sapienza MT¹, Chammas MC¹, Cogliati B², Carrilho FJ¹. Orientador: Oliveira CP¹.

1. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, Brasil.
2. Faculdade de Medicina Veterinária e Ciência Animal, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Introdução: A Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA) abrange um largo espectro de doença: esteatose isolada ou com inflamação mínima, esteatoepatite (EHNA), fibrose, cirrose e carcinoma hepatocelular (CHC). O CHC é o quinto câncer mais prevalente no mundo com uma estimativa de 437 mil novos casos anuais, ocupando o 3º lugar na mortalidade global entre os diversos cânceres. Nos últimos 25 anos, houve um aumento estimado de 71% neste tipo de câncer, especialmente nos países ocidentais, o qual ocorreu em grande parte devido à epidemia de hepatite C, mas também pelo aumento da obesidade, diabetes e a DHGNA. A Tomografia por Emissão de Pósitrons com deoxiglicose marcada com flúor-18 (¹⁸F-FDG PET), é capaz de fornecer cerca de uma hora após a injeção do radiofármaco imagens que refletem o metabolismo glicolítico de todo o corpo. Vários estudos têm utilizado parâmetros deste exame para avaliar a resposta à quimioterapia, monitorar *in vivo* o desenvolvimento e progressão tumoral, além de identificar metastases. O único tratamento aprovado pela FDA direcionado para o CHC avançado é o sorafenibe, um inibidor multiquinase que bloqueia a c-RAF-quinase, um componente crítico da via de sinalização de RAF/ MEK/ ERK e de VEGFR2 envolvido na sinalização da angiogênese, aumentando a apoptose, diminuindo a angiogênese e proliferação celular. **Objetivos:** Avaliar a eficácia do sorafenib no modelo pré-clínico misto de DHGNA e CHC; padronizar o ¹⁸F-FDG PET neste modelo; avaliar especificidade e sensibilidade do ¹⁸F-FDG PET no diagnóstico do CHC. **Métodos e procedimentos:** Esse estudo seguiu as orientações recomendadas da Declaração de Helsinki de 1975 e do Serviço de Experimentação em animais da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, após aprovação pelo Comissão de Ética no Uso de Animais/USP. Foram utilizados 30 ratos Sprague-Dawley, machos, pesando entre 315-427g, provenientes do Biotério do Laboratório de Gastroenterologia Clínica e Experimental da FMUSP. Os animais foram mantidos em local com temperatura, umidade e ventilação controlada, com ciclos de luz/ escuro de 12 horas. O CHC secundário a EHNA foi induzido pela combinação de dieta hiperlipídica deficiente em colina (DHC) [35% de gordura total, enriquecida com 54% de ácidos graxos trans (Rhoster Ltda, Brasil)] e dietilnitrosamina (DEN) (Sigma Chemical, IUPAC nitrosodiethylamine, Missouri, EUA) na dose de 100 mg/ L na água de beber conforme descrito previamente, por 16 semanas. Após este período os estímulos externos foram suspensos e os animais foram divididos em 2 grupos: controle (n=10) que recebeu 3mL de solução salina (0,9%) diariamente por gavagem por 3 semanas e sorafenib que recebeu solução de 2,5mg/kg de sorafenib (doado pela Bayer HealthCare Pharmaceuticals) com Polietilenoglicol diariamente por gavagem durante 3 semanas. Na 16ª semana também foi realizada ultrassonografia hepática com modo B e Doppler, usando o aparelho Aplio XG 12MHz (Toshiba, Japão), para quantificar os nódulos, suas localizações e seus tamanhos. Na 19ª semana, foi realizado o ¹⁸F-FDG PET, usando o micro-SPECT/PET/CT equipment model LabPET4 (Triumph – Gamma ideas). Após 24h de ficar no biotério da medicina nuclear, para o decaimento do radioisótopo, os animais foram levados ao LIM-07, onde foram sacrificados com anestesia de cloridrato de ketamina (0,1mL/kg), seguida de exsanguinação por punção da Aorta. Foram coletados 2 espécimes do lobo esquerdo, 1 do lobo direito e os nódulos hepáticos, catalogados separadamente, para análise histológica (Hematoxilina-Eosina) e classificação dos achados segundo as classificações de Edmondson-Steiner e Kleiner. A análise estatística foi realizada usando o Excel e Prism versão 7, testes de Mann-Whitney e *t-student* conforme as variáveis estudadas, além do cálculo da média, desvio padrão e mediana. **Resultados:** O PET com 18F-FDG obteve sensibilidade de 62,5% e especificidade de 100% no diagnóstico

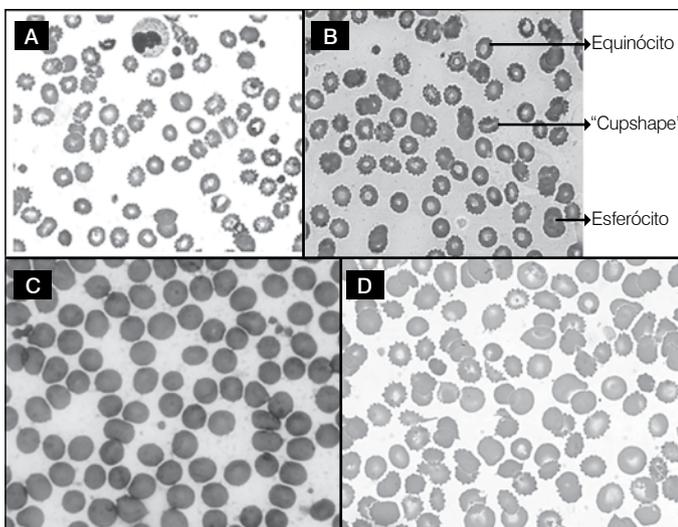


Figura 1. Visualização por microscopia óptica de eritrócitos em esfregaços sanguíneos. A) formas de eritrócitos modificados de pacientes obesos com esteatose; B) formas de eritrócitos modificados de pacientes obesos com NASH; C) eritrócitos normais de voluntários saudáveis; D) formas de eritrócitos modificados *in vitro*.

do CHC. Ambos os grupos tiveram uma taxa de mortalidade de 60% durante o estudo, não havendo diferença estatística na curva de Kaplan-Meier. Na semana 16 do experimento, antes do início do tratamento, os grupos não apresentaram diferença quanto ao peso ($p=0,68$) e nem número de nódulos ($p=0,72$). Ao término do tratamento, semana 19, o grupo controle estava com maior peso que o sorafenib (497,5g vs 391,5g, $p=0,01$). Na avaliação pelo PET, o SUV médio foi semelhante entre os grupos (controle 2,4 vs sorafenib 1,3, $p=0,11$), mas o SUV máximo foi maior no grupo controle (3,8 vs 2,4, $p=0,01$) como aconteceu também com a relação tumor-músculo (controle 4,7 vs 3,5 do sorafenib, $p=0,001$). Não houve diferença quanto ao aspecto das lesões no PET (hipercaptantes vs hipercaptantes com centro hipocaptante – $p=0,23$), nem no volume final dos nódulos hepáticos dos dois grupos, segundo critério de RECIST ($p=0,5$) e nem quanto a presença de metástase pulmonar. Na histologia, encontraram-se 34 nódulos em ambos os grupos, sendo que o grupo tratado tinha mais CHC grau I e II ($p=0,01$), enquanto que o controle mais CHC grau III e IV. Não houve diferença entre os grupos também quanto a distribuição dos nódulos displásicos de baixo e alto grau, invasão vascular, estadiamento da fibrose hepática, escore de atividade necroinflamatória (NAS), hemorragia intranodular e necrose intranodular. **Conclusões:** Trata-se de modelo animal com mortalidade alta, mas que consegue mimetizar a cadeia de eventos da DHGNA. O PET com 18F-FDG, da mesma forma que nos seres humanos, tem baixa sensibilidade, mas alta especificidade. O SUV máximo e a relação tumor-músculo, foram fatores que conseguiram melhor avaliar a resposta ao quimioterápico, que o volume tumoral e o SUV médio. Além do que seus valores maiores, indicam tumores mais indiferenciados. O sorafenib foi eficaz na redução de lesões mais agressivas do CHC, porém não interferiu na mortalidade dos animais deste modelo.

Influência dos polimorfismos do gene da UCP3 na síndrome metabólica e risco cardiovascular em pacientes com doença hepática gordurosa não-alcóolica

Karla Sawada Toda, José Tadeu Stefano, Fernando Costa, Ana Mercedes Cavaleiro, Daniel Mazo, Flair Jose Carrilho, Maria Lúcia Correa-Giannella. Orientador: Claudia Pinto Marques Souza Oliveira.

Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, SP, Brasil.

Introdução: A doença hepática gordurosa não-alcóolica (DHGNA) tornou-se a principal causa de doença hepática crônica no mundo todo. Vários estudos têm reportado a DHGNA como um forte fator de risco para doenças cardiovasculares (DCV). A região do gene da proteína desacopladora 3 (UCP3) tem sido associada com metabolismo energético e características metabólicas, como mudanças no índice de massa corporal (IMC) e diabetes. **Objetivos:** Avaliar a possível associação entre polimorfismos do gene da UCP3 com DHGNA, síndrome metabólica (SM) e risco para DCV. **Métodos:** Uma população de 239 pacientes com DHGNA foi recrutada em um estudo transversal. Desses, 161 pacientes já possuíam biópsia hepática devido indicação clínica investigativa ambulatorial e foram testados para três polimorfismos de único nucleotídeo (SNPs) não-sinônimos no gene da UCP3 rs11235972, rs3781907 e rs1726745 pelo método TaqMan. Dados antropométricos, clínicos e laboratoriais foram registrados. **Odds ratio** (OR) com seus intervalos de confiança de 95% (IC) foram calculados para o menor alelo de cada SNP em um modelo codominante ou recessivo. Correção para múltiplas comparações devido a múltiplos testes de SNP considerou o número efetivo de testes independentes (Meff) com base no grau do desequilíbrio de ligação (DL) entre SNPs. Um valor de $p \leq 0,02$ foi considerado significativo para comparações relacionadas ao genótipo. **Resultados:** Pacientes com esteatohepatite (EHNA) ($n=135$) tiveram uma média de idade de $56 \pm 9,3$ anos; 54,0% eram do sexo feminino e 84,9% apresentavam SM. Além disso, pacientes com EHNA tiveram maior IMC ($p=0,01$) e maiores níveis de insulina ($p=0,02$), bem como maior frequência de diabetes ($p=0,03$), em relação a pacientes com esteatose hepática simples na biópsia hepática. O alelo T do polimorfismo rs1726745 mostrou associação com menor ocorrência de SM (OR=0,25, 95% IC: 0,08-0,75, $p=0,01$) e menores valores de aspartatoaminotransferase (AST) (CC=50,18 \pm 4,96 vs XT=31,14 \pm 3,48, $p=0,0008$), alaninoaminotransferase (ALT) (CC=72,98 \pm 7,29 vs XT=44,43 \pm 6,48, $p<0,0001$) e triglicéridios (TG) (CC=214,12 \pm 16,99 vs XT=160,24 \pm 12,05, $p=0,01$). Os polimorfismos rs3781907 e rs11235972 mostraram associação com menores valores

de gama glutamiltransferase (GGT) (AA=90,67 \pm 9,00 vs XG=56,98 \pm 11,00, $p=0,003$ e GG=85,47 \pm 8,30 vs XA=56,54 \pm 13,41, $p=0,005$, respectivamente), entretanto, não houve associação com presença ou ausência de SM. Não foi encontrada associação entre a frequência dos genótipos dos polimorfismos da UCP3 e predição de esteatose hepática ou EHNA na biópsia hepática. **Conclusão:** O polimorfismo do gene da UCP3 rs1726745 foi associado com menor ocorrência de SM e menores valores de AST, ALT e TG. Os polimorfismos do gene da UCP3 rs3781907 e rs11235972 não foram importantes determinantes de SM em pacientes com DHGNA, mas demonstraram associação com menores valores de GGT. Tais fatores poderiam contribuir na redução do risco cardiovascular nesta população, porém, estudos adicionais são necessários.

Expressão hepática de marcadores inflamatórios: adiponectina, TNF-alfa, interleucina-6 e fragmento CK-18 na doença hepática gordurosa não-alcóolica em pacientes submetidos à cirurgia bariátrica

Lúcia Helena de Oliveira Cordeiro. Orientador: Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto.

Universidade Federal de Pernambuco e Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, PE, Brasil.

Introdução: Dentre as doenças associadas à obesidade estão a doença hepática gordurosa não alcóolica (DHGNA) e sua forma mais severa, a esteatohepatite não alcóolica (EHNA). A prevalência de EHNA na população de obesos graves varia de 19 a 25%. Pacientes com EHNA desenvolvem fibrose semelhante à hepatite alcóolica ou viral, conforme descrição de Ludwig nos anos 80. Posteriormente, observou-se um fenótipo de obesidade, resistência insulínica e diabetes mellitus associado à evolução da EHNA para fibrose, cirrose e carcinoma hepático, estando também associada a mortalidade cardiovascular e câncer não-hepático. Atualmente, patologistas já reconhecem padrões intermediários da doença, com esteatose e com fibrose, sem degeneração ou inflamação, ou ainda, degeneração em balão com leve inflamação e esteatose sem fibrose, sugerindo um padrão dinâmico da doença. A razão pela qual alguns pacientes desenvolvem fibrose hepática progressiva e se tornam cirróticos, mesmo após tratamento efetivo para perda de peso, como a cirurgia bariátrica, e outros permanecem estáveis ainda é desconhecida. O tecido adiposo é um órgão metabolicamente ativo que secreta substâncias pró-inflamatórias, chamadas adipocinas, e anti-inflamatórias como a adiponectina, que está reduzida nos pacientes obesos com resistência insulínica. É atribuída à adiponectina papel protetor no fígado esteatótico. A progressão da fibrose ocorre por estímulo das células estreladas hepáticas e a apoptose celular por ativação da caspase aumentando o fragmento CK-18. A adiponectina foi encontrada em células estreladas ativadas mas não em células hepáticas quiescentes. Devido ao papel antifibrótico da adiponectina na DHGNA este estudo tem como objetivo avaliar a expressão da adiponectina, Interleucina-6, TNF-alfa e marcador de apoptose caspase-mediada, o fragmento CK-18, em tecido hepático de pacientes com obesidade grave submetidos à cirurgia bariátrica. **Casística e métodos:** A amostra foi calculada para 50 pacientes com biópsia hepática durante cirurgia bariátrica entre 2014 e 2015. Excluídos doença viral, autoimune, exposição à substâncias tóxicas, hemocromatose, hemotransfusão e consumo de álcool (> 140g/semana para homens e > 70g/semana para mulheres). A histologia foi avaliada por um único patologista experiente. O estudo foi aprovado pelo CEP ofício no 042/2003-CEP/CSS. A DHGNA foi classificada em Esteatose Hepática: macrovesicular, microvesicular e mista e Esteatohepatite caracterizada pela presença de infiltrado misto centrolobular, degeneração em balão e fibrose perisinusoidal. **Metodologia:** 1) O RNA total foi extraído de biópsias hepáticas armazenadas em RNA later usando o kit RNA Miniprep System (QIAGEN) de acordo com as instruções do fabricante. O RNA total foi quantificado pelo Nanodrop 2000 (Thermo Scientific) e transcrito através do kit Reverse Transcription (Qiagen). PCR quantitativo para IL-6, TNF α , Adiponectina e fragmento CK-18 foi realizado em duplicata a partir de 25 ng de cDNA e primers específicos utilizando SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems). As condições de ciclagem foram 50°C - 2 min, 95°C - 15 min, e 40 ciclos de 95°C por 15 s e 60°C por 1 min. 2) Detecção e quantificação de CK-18 por ELISA utilizando o kit comercial Human Apoptosense M30 (AM30) ELISA Cat.No: MBS9300524. A leitura em leitor de ELISA (Thermo Scientific). **Análise estatística:** Foi realizada análise descritiva dos dados a partir do cálculo de médias, desvio padrão e proporções. Foram testadas as diferenças entre os graus de DHGNA, em relação à histologia hepática, presença de EH ou EHNA, através do teste não paramétrico Mann-Whitney

de comparação de duas médias, visto que as variáveis não apresentavam distribuição normal. O teste não-paramétrico Kruskal Wallis foi usado para comparação de múltiplas médias com relação aos achados histológicos (degeneração em balão, inflamação lobular e presença de fibrose). Para testar a independência de classificação (associação entre variáveis) foi utilizado o teste Qui-quadrado de independência de Pearson e, quando necessário, o teste exato de Fisher. Em todos os testes foi adotado o nível de significância de 5%. Os cálculos foram feitos no software SPSS versão 20.0. **Resultados:** Foram avaliados 52 pacientes, com média de idade de 38 anos, IMC médio 40,74 kg/m² e média da cintura de 121,80 cm. Dentre os pacientes estudados, 42 (80,8%) apresentavam EH e 10 pacientes (19,2%) EHNA, sendo 1 portador de cirrose. Dos 42 pacientes com EH, 19 apresentaram degeneração em balão, 14 inflamação mista e 16 fibrose perisinusoidal. Todos os 10 pacientes com EHNA apresentaram alterações na expressão hepática do mRNA dos marcadores inflamatórios quando comparados aos com EH (Tabela 1). Quando analisados os achados histológicos, isoladamente: degeneração em balão, inflamação lobular e presença de fibrose perisinusoidal, não se observou diferença estatística na expressão hepática das citocinas naqueles com degeneração em balão. Já naqueles com infiltrado misto, verificou-se aumento da adiponectina ($p=0,02$), e naqueles com fibrose perisinusoidal encontrou-se aumento do TNF-alfa ($p=0,012$).

Discussão: Classicamente a EHNA apresenta padrão de deposição de colágeno ao redor dos hepatócitos da zona 3, havendo progressão para fibrose portal e cirrose. Esse padrão é descrito em modelos animais, mostrando evidências de inflamação presentes na resistência insulínica e obesidade, com a apoptose do hepatócito. É atribuída à adiponectina efeito anti-inflamatório, facilitador da remoção das células apoptóticas pelos macrófagos e limitador da migração de células estreladas hepáticas.

Tabela 1. Extração do RNA e rt PCR de marcadores inflamatórios: adiponectina, interleucina-6, TNF-alfa CK-18, em relação a esteatose e esteatohepatite.

Variáveis	Esteatose N=42 (80,8%)	EHNA N=10 (19,2%)	P value
Adiponectina	70.231,54 ± 1.124,00	333.554,54 ± 3.555,00	0,012
IL-6	1,394 ± 2,22	3,46 ± 2,95	0,015
TNF- α	10,07 ± 9,76	59,40 ± 61,87	0,015
CK-18	5.818,16 ± 6.834,80	24.006,56 ± 33.854,16	0,015

A adiponectina foi avaliada em humanos com diferentes graus de cirrose e colestase, e correlacionada com a gravidade da doença hepática. Pacientes classificados como Child A e B tiveram expressão elevada da adiponectina ($p=0,05$), mas o mesmo não foi observado em pacientes com Child C. Em recente estudo, a adiponectina reduziu a mobilização das células estreladas através da secreção do TIMP-1 (Promoting Tissue Inhibitor of metalloproteinase-1). No presente estudo, os marcadores de inflamação se correlacionaram positivamente com graus mais avançados de DHGNA havendo aumento significativo nos pacientes com EHNA. Em adição, quando a análise foi realizada pelo tipo da alteração histológica a expressão relativa da adiponectina no tecido hepático foi aumentada na presença do infiltrado inflamatório, enquanto a expressão do TNF-alfa foi aumentada na presença de fibrose. Esses dados são suportados por estudos em animais, onde a expressão da adiponectina foi aumentada em células estreladas ativadas, mas não nas quiescentes, o que revela o papel pró-apoptótico da adiponectina protegendo o fígado contra a fibrose. **Conclusão:** Os resultados deste estudo sugerem um caráter dinâmico da DHGNA, com a expressão de marcadores anti-inflamatórios, adiponectina, e pró-inflamatórios, interleucina-6, TNF-alfa e CK-18, atuando em concomitância para impedir ou perpetuar a agressão hepática, respectivamente, uma vez instalada a esteatose.

Diferença de frequência dos anticorpos anticitoplasma de neutrófilos na colangite esclerosante primária com ou sem doença inflamatória intestinal, nos subtipos de hepatite autoimune e colangite biliar primária

Juliana Goldbaum Crescente. Orientador: Eduardo Luiz Rachid Cançado.

Instituto de Medicina Tropical.

Introdução: O anticorpo anticitoplasma de neutrófilos (ANCA) é classificado em três subtipos de acordo com o padrão observado em imunofluorescência indireta (IFI) utilizando neutrófilos humanos fixados em etanol como substrato. O c-ANCA apresenta forte associação com a enzima neutrofílica proteinase 3 (PR3), enquanto o p-ANCA clássico está fortemente associado à mieloperoxidase (MPO), catepsina G, elastase, lactoferrina e lisozima. Na hepatite autoimune (HAI), colangite esclerosante primária (CEP) e doença inflamatória intestinal (DII) é observado outro padrão de IFI classificado como p-ANCA atípico que não apresenta reatividade contra as enzimas PR3 e MPO. **Justificativa:** Nos pacientes sem DII e sem alterações colangiográficas de grandes ductos, a identificação de fibrose periductal concêntrica tem sido considerada de fundamental importância para se estabelecer o diagnóstico correto da doença hepática. A caracterização do p-ANCA atípico nessas situações ajudaria sobremaneira a confirmação do diagnóstico de CEP. Por outro lado, observa-se alta frequência do p-ANCA atípico na HAI, porém poucos trabalhos estudaram a frequência do ANCA considerando os diferentes autoanticorpos marcadores da HAI. **Objetivo:** Determinação da frequência dos diferentes tipos de ANCAs na CEP com ou sem DII concomitante (CEP/DII⁺, CEP/DII⁻), em três subtipos de hepatite autoimune (HAI tipo 1 com anticorpo antimúsculo liso padrão tubular com ou sem anticorpo antinúcleo (ANA); HAI tipo 2 com anticorpo anti-LKM1; HAI-3 com antiátigeno hepático solúvel/fígado e pâncreas (anti-SLA/LP), com ou sem ANA associado); na colangite biliar primária (CBP) e em controles saudáveis. Para a HAI-1 e HAI-2 exigiu-se a negatividade do anti-SLA/LP. **Metodologia:** Foram estudados 249 pacientes (42 CEP/DII⁺; 33 CEP/DII⁻; 31 HAI-1; 30 HAI-2; 31 HAI-3; 52 CBP; 30 indivíduos saudáveis). As amostras dos soros foram testadas pelos ensaios comerciais INOVA[®] para imunofluorescência indireta: ANCA Etanol e FAN HEP-2. Para definir especificidades antigênicas do ANCA, foram realizados testes comerciais de INOVA[®] Quanta Lite[™] MPO ELISA, Quanta Lite[™] PR3 ELISA. Para as análises estatísticas, as variáveis quantitativas foram descritas por meio de média \pm desvio padrão e frequência para as variáveis qualitativas. As estimativas de prevalência foram comparadas pelo teste exato de Fisher. Comparações múltiplas foram feitas com correção de Holm. A concordância dos métodos foi analisada pelos testes de McNemar e Kappa. Os resultados foram considerados estatisticamente significantes para valores de $p < 0,05$. Todos os cálculos foram realizados do programa R, versão 3.1.2. **Resultados:** O p-ANCA clássico esteve presente em 1,9% (IC 95%: 0-11,07) dos pacientes com CBP e em 7,1% (IC 95%: 1,77 – 19,7) dos pacientes com CEP/DII⁺. O p-ANCA atípico foi identificado em 62 das 249 amostras testadas (24,9%), sendo mais frequentemente detectado na CEP/DII⁺ (52,4%, IC 95%: 37,72-66,6) do que na CEP/DII⁻ (21,2%, IC 95%: 10,38-38,05), $p=0,005$. Não foi observada diferença significativa pelo teste de Fisher na frequência do p-ANCA atípico na CEP/DII⁻ em relação a CBP (21,2%, IC 95%: 10,38-38,05 versus 15,4%, IC 95%: 7,74 – 27,79), $p=0,56$. Foi ainda mais frequentemente observado na HAI-1 do que na HAI-2 (45,2%, IC 95%: 29,15-62,24 versus 3,3%, IC 95%: 0-18,09, $p < 0,001$) e mais frequentemente observado na HAI-3 do que na HAI-2 (32,3%, IC 95%: 18,46-49,97 versus 3,3%, IC 95%: 0-18,09, $p=0,012$). Não foi detectada diferença entre a HAI-1 e a HAI-3 ($p=0,434$). Nenhuma das 30 amostras do grupo controle apresentou o padrão p-ANCA atípico. O padrão c-ANCA clássico esteve presente em apenas três amostras de 249 pacientes (1,2%). O c-ANCA atípico foi detectado em dois de 249 casos (0,8%), uma amostra de paciente com CEP/DII⁺ e outra de HAI-2. Em 14 de 249 amostras (5,6%), não foi possível definir o padrão ANCA por interferência da reatividade do ANA. Este padrão inconclusivo, ao analisado pelo teste de Fisher não evidenciou diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados (entre os tipos de HAI, $p=0,207$ e entre CEP/DII⁺ versus CEP/DII⁻, $p=0,945$). Anticorpos anti-PR3, foram detectados em 25 de 249 amostras (10,4%). A reatividade ao anti-PR3 foi mais frequente na CEP/DII⁺ (35,7%, IC 95%: 22,94-50,88) do que na CEP/DII⁻ (12,1%, IC 95%: 4,52-29,46), $p=0,025$. Anticorpos anti-MPO foram identificados em oito de 249 amostras (3,2%). Ressalta-se que dois pacientes CEP/DII⁺ apresentaram simultaneamente positividade para o anti-PR3 e anti-MPO. Foi realizada a comparação entre a reatividade do ANCA em neutrófilos fixados em etanol e a dos ELISAs. Esperava-se que os padrões clássicos do p-ANCA e c-ANCA observados pela IFI estivessem associados à reatividade para o anti-MPO e anti-PR3 respectivamente. Houve concordância marginal entre a presença do p-ANCA clássico observado na IFI, 1,6% (IC 95%: 0,48 – 4,21) e o ELISA anti-MPO 3,2% (IC 95%: 1,53 – 6,32), $p=0,388$. Contudo, não houve concordância central, coeficiente Kappa = 0,022 ($p=0,713$), refletido nas concordâncias em pelo menos um resultado positivo (0%). Quanto a comparação entre reatividade do c-ANCA clássico em neutrófilos fixados em etanol e a do ELISA anti-PR3. O c-ANCA clássico por IFI esteve presente em 1,2% (3/249) dos pacientes analisados (IC 95% = 0,24 – 3,65), McNemar, $p < 0,001$. Enquanto o ELISA anti-PR3 apresentou

uma positividade de 3,7% (IC 95% = 0 – 19,8), estatística Kappa $p=0,18$. Para os negativos a concordância foi de 89,4% (IC 95% = 84,92 – 92,73). Portanto, não há evidências de que o c-ANCA clássico observado por IFI possa concordância com a reatividade do anti-PR3. Para o p-ANCA atípico, identificado em 62 das 249 amostras testadas (24,9%), a maioria dos casos (49/62, 79%) não exibiu reatividade para o anti-MPO ou anti-PR3. Treze pacientes com reatividade para o p-ANCA atípico pela IFI exibiram reatividade para pelo menos um dos ELISA. Por outro lado, seis amostras apresentaram positividade para o anti-MPO, onze para o anti-PR3 e uma para os dois anticorpos a despeito de serem negativas pela IFI. Quanto aos testes de concordância para o p-ANCA atípico, a estatística Kappa = 0,796 ($p < 0,001$) mostrou que há concordância, por outro lado, o teste McNemar ($p < 0,031$) mostrou discordância. Nesse caso, pode-se afirmar que há concordância entre os exames com estatística Kappa = 0,796, mesmo que o teste de McNemar apresente significância estatística (o que indicaria discordância), pois o percentual de resultados positivos, não foram clinicamente diferentes (20,4% e 23,8%). **Conclusões:** Do ponto de vista sorológico a CEP/DII+ comporta-se de forma diferente da CEP/DII-, visto que o p-ANCA atípico e o anti-PR3 foram significativamente mais frequentes na primeira. Quanto aos diversos tipos de ANCA, a CEP/DII- teve comportamento semelhante ao da colangite biliar primária, o que pode sugerir que a maior frequência do p-ANCA atípico esteja mais associada à DII do que à CEP. Pacientes com HAI-1 e HAI-3 apresentaram maior frequência de p-ANCA atípico em relação a HAI-2. Não houve concordância entre os resultados da IFI e os do ELISA, o que dificulta a interpretação do resultado desses exames no contexto das doenças autoimunes do fígado e doença inflamatória intestinal.

CIRROSE HEPÁTICA E SUAS COMPLICAÇÕES

Debatedores: Alberto Queiros Farias (SP), Leonardo de LuccaSchiaivon (SC), Mario Kondo (SP)

Preditores de osteoporose e osteopenia em portadores de cirrose

Lívia Alves Amaral Santos. Orientador: Fernando Gomes Romeiro.

Introdução: A osteoporose é a única complicação da cirrose que piora de forma contínua durante a vida dos pacientes, inclusive após o transplante hepático. As taxas de fraturas por osteoporose nesses pacientes são aproximadamente o dobro das observadas em indivíduos sem cirrose pareados por idade. Contudo, a maioria dos estudos que avaliaram a osteoporose na cirrose incluiu apenas pacientes em listas de transplante de fígado, com alta prevalência de doenças ósseas. Essa prevalência varia de 26% a 42% para a osteopenia e de 11,5% a 78,8% para a osteoporose, com muitas diferenças entre os estudos em relação ao número de pacientes incluídos, a gravidade da doença hepática, o método aplicado para o diagnóstico de doença óssea, a etiologia da cirrose e o osso avaliado (coluna lombar e/ou colo do fêmur). Apesar das diferenças, algumas conclusões são claras: a redução de massa óssea é comum em portadores de cirrose e a coluna lombar é mais afetada do que o colo do fêmur. Estudos com pacientes à espera de transplante hepático sugerem que a densitometria óssea deve ser parte da avaliação antes do transplante, visto que a redução da massa óssea não melhora após o procedimento e pode inclusive haver piora nos primeiros meses após a cirurgia. Estudos em indivíduos sem cirrose mostram que menores valores de força do aperto de mão (FAM) estão associados à baixa densidade mineral óssea (DMO) de pessoas com 50 anos ou mais, especialmente mulheres na pós-menopausa. Esses estudos mostram que a FAM, além de ser uma medida não invasiva, precisa e fácil de ser realizada, tem excelente correlação com a DMO. Entretanto, os indivíduos avaliados eram em sua maioria chineses, sem avaliação de populações da América Latina. Embora esses estudos tenham mostrado que a FAM está claramente associada com a DMO, seu papel como possível preditor de alterações ósseas ainda não havia sido avaliado em pacientes com cirrose. **Objetivo:** Avaliar se a FAM, exames de função hepática e exames relacionados à saúde óssea poderiam ser úteis como preditores de doença óssea em pacientes ambulatoriais com cirrose atendidos na Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB) - UNESP. **Material e métodos:** Foram avaliados portadores de cirrose submetidos à Dual-energy x-ray absorptiometry – DXA (Discovery QDR Hologic, Inc.) para avaliar T escores da coluna-lombar e do colo do fêmur. A FAM foi aferida com a mão não dominante utilizando um dinamômetro mecânico (Saehan Corporation, S. Korea). No exame clínico foi avaliada a presença de ascite e edema de acordo com a última consulta

médica. Foram realizadas as dosagens séricas de creatinina, bilirrubina total, tempo de protrombina, amônia, albumina, paratormônio (PTH), 25 (OH) vitamina D, magnésio, proteína C reativa (PCR), cálcio e calcúria de 24 horas. Foram calculados a classificação de *Child-Pugh* e o escore *MELD*. Os resultados foram avaliados pelo modelo de regressão linear de Backward, para encontrar os melhores preditores de T escores baixos. Para encontrar os pontos de corte desses preditores foi realizada a curva ROC de acordo com a condição óssea e o local (osteopenia ou osteoporose e coluna lombar ou colo do fêmur). **Resultados:** Cento e vinte e nove indivíduos foram incluídos (77 homens e 52 mulheres), com média de idade de 55 anos. Predominaram os casos de doença hepática compensada: *Child-Pugh* A= 69%, *Child-Pugh* B= 24,8% e *Child-Pugh* C= 6,2%. A média do escore *MELD* foi de $10,60 \pm 3,99$. As prevalências de osteoporose/osteopenia foram 26,3%/35,6% na coluna lombar e 6,9%/41,8% no colo do fêmur, respectivamente. Para a coluna lombar, apenas a baixa força de prensão manual e maiores níveis de PTH foram preditores de baixo T escore. Para o colo do fêmur, apenas a idade foi associada com baixo T escore. A gravidade da doença hepática não influenciou a presença de alterações ósseas. A dosagem de 25 (OH) vitamina D em nossa amostra teve média de $28,50 \pm 7,81$ ng/mL e 14 indivíduos (10,8%) tinham deficiência (valores abaixo de 20 ng/mL). Em outros estudos, os pacientes que apresentavam deficiência de 25 (OH) vitamina D tinham doença avançada ou cirrose por álcool. Essa diferença nos resultados em relação a 25 (OH) vitamina D pode ser porque este estudo foi realizado num país tropical e a maioria tinha cirrose compensada por hepatite C. De acordo com a curva ROC, valores de FAM menores que 23,5 kg e menores que 20 kg foram preditores de osteoporose na coluna lombar e no colo do fêmur, respectivamente. E valores da FAM abaixo de 27 kg e 24,5 Kg foram indicativos de osteopenia na coluna lombar e colo do fêmur, respectivamente. **Conclusões:** A FAM pode ser utilizada como preditor eficaz de baixo T escore da coluna lombar entre pacientes com cirrose acompanhados ambulatorialmente. Como a cirrose afeta mais a coluna lombar do que o colo do fêmur, estes resultados sugerem que a FAM deve ser realizada em todos os pacientes com cirrose compensada como um primeiro indicador da saúde óssea.

Mortalidade e injúria renal aguda em pacientes com ascite refratária submetidos a paracentese de 5 litros sem reposição de albumina

Rodrigo Pereira Luz

Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, Brasil.

Introdução: A paracentese de até 5 litros sem infusão de albumina é considerada como uma opção segura e adequada para o manejo de pacientes com cirrose e ascite refratária. **Objetivo:** Avaliar a incidência de injúria renal aguda (IRA) e mortalidade em três meses após uma paracentese de 5 litros sem infusão de albumina em pacientes cirróticos com ascite refratária. **Métodos:** Este estudo prospectivo foi realizado em um hospital universitário que é referência no tratamento de doenças do fígado. Pacientes cirróticos com ascite refratária e que necessitavam de paracentese foram inscritos. Todos os pacientes realizaram paracentese de no máximo de 5 litros, sem reposição de albumina. Sódio sérico, creatinina sérica e atividade de renina plasmática (APR) foram analisados no início do estudo e repetidos no sexto dia após a paracentese. A injúria renal aguda foi definida como um aumento de pelo menos 0,3 mg / dL na creatinina basal dosada no dia da paracentese e no sexto dia após. Os pacientes foram acompanhados durante 3 meses após o procedimento. **Resultados:** Trinta e três pacientes foram incluídos, dos quais 26 (78%) eram homens, idade de 59 ± 7 anos. Uma média de $4,8 \pm 0,5$ L de líquido ascítico foram removidos na paracentese. Sete pacientes (21%) preencheram os critérios diagnósticos para IRA. Os pacientes que desenvolveram IRA tiveram valores mais baixos de sódio sérico (129 vs 133; $p = 0,02$). APR foi obtida em 25 pacientes. O aumento da APR após paracentese foi maior em pacientes com IRA quando comparados àqueles que não desenvolveram IRA (330% vs. 36,5%, $p = 0,07$). A mortalidade em três meses foi de 90% em pacientes com IRA e 9% nos pacientes sem IRA ($p = 0,02$). **Conclusões:** Uma paracentese 5 litros sem reposição de albumina pode resultar em alterações hemodinâmicas renais em um número significativo de pacientes com ascite refratária. Hiponatremia está associada com um risco maior de IRA e a mortalidade aumenta significativamente após o desenvolvimento de IRA. Infusão de albumina pode ser considerada em pacientes hiponatremicos.

Injúria renal aguda em cirróticos com ascite: risco aumentado com o uso de betabloqueadores

Juliana Ribeiro de Carvalho

Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ); Instituto Nacional de Câncer (INCA).

Introdução: Recentemente, o uso de betabloqueadores não seletivos (BBNS) em pacientes com cirrose avançada tem sido questionado em relação a sua segurança e possível associação com eventos adversos, como injúria renal aguda (IRA). **Objetivos:** O objetivo deste estudo foi avaliar a associação entre o uso de BBNS e a presença de IRA nas primeiras 48 horas de internação de pacientes cirróticos com ascite. **Casística e métodos:** As internações de pacientes cirróticos com ascite em um hospital universitário entre novembro/2003 e dezembro/2007 foram revistas retrospectivamente. IRA na admissão hospitalar foi definida como uma diferença maior ou igual a 0,3 mg/dL entre dois valores de creatinina obtidos nas primeiras 48 horas de internação. A associação entre uso de BBNS e IRA foi avaliada por análise de regressão logística. **Resultados:** Foram incluídas 328 hospitalizações de pacientes cirróticos com ascite (59% do sexo masculino; média de idade 59±13 anos). Na admissão, 133 pacientes (41%) foram classificados como Child B e 195 (59%) como Child C. História prévia de hemorragia digestiva alta estava presente em 144 pacientes (44%) e 200 (61%) estavam em uso de BBNS. IRA na admissão hospitalar foi observada em 196 pacientes (60%), estando presente em 66% dos pacientes em uso de BBNS e em 50% daqueles que não estavam em uso da droga ($p=0,004$). Em pacientes Child B, IRA ocorreu em 61% daqueles em uso de BBNS e 51% dos que estavam sem a droga ($p=0,24$). Uma associação significativa entre IRA e uso de BBNS foi observada em pacientes Child C (69% vs 49%; $p=0,006$). As variáveis idade, sexo, episódio prévio de hemorragia digestiva, episódio prévio de peritonite bacteriana espontânea, história de diabetes mellitus, história de hipertensão arterial sistêmica, uso de diuréticos, uso de BBNS, escore Child-Pugh na admissão e sódio sérico na admissão foram incluídas em modelo de regressão logística. No modelo final, as variáveis associadas de forma independente a IRA nas primeiras 48h de internação foram: idade (OR: 1,03; IC 95%: 1,00-1,05; $p=0,004$), sódio sérico na admissão (OR: 0,95; IC 95% 0,92 – 0,99; $p=0,014$) e uso de BBNS (OR: 1,91; IC 95% 1,2 – 3,06; $p=0,007$). **Conclusão:** O uso de BBNS está associado a um risco aumentado de insuficiência renal na admissão hospitalar, sobretudo em pacientes cirróticos Child C. O uso destas drogas neste grupo de pacientes deve ser reavaliado.

Abordagem não-invasiva do Consenso Baveno VI para profilaxia primária de sangramento varicoso em cirróticos: a elastografia esplênica pode contribuir?

Flavia Ferreira Fernandes

Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ); Instituto Nacional de Câncer (INCA).

Introdução: Varizes gastro-esofágicas (VGE) são um achado crucial na história natural da cirrose, uma vez que caracterizam a presença de hiperensão portal clinicamente significativa. Recentemente, o Consenso de Baveno VI propôs que pacientes com plaquetas > 150.000 e elastografia hepática (EH) < 20 kPa não necessitam de endoscopia digestiva alta (EDA) para afastar a presença de VGE. A elastografia esplênica (EE) tem sido estudada como complementar a EH na detecção de VGE. **Objetivo:** avaliar o desempenho dos pontos de corte de plaquetas e EH propostos pelo Baveno VI e o potencial benefício de associar a EE a esta abordagem. **Metodologia:** pacientes com cirrose recentemente diagnosticada foram incluídos prospectivamente e submetidos a EH, EE e EDA, no mesmo dia, por examinadores experientes. Amostras de sangue foram coletadas para contagem de plaquetas e determinação da função hepática. EH e ES foram expressas em kiloPascals (kPa) e a mediana de 10 medidas foi considerada para análise. Apenas exames com sucesso $> 60\%$ e IQR/Mediana $< 30\%$ foram considerados. A EE foi guiada por ultrassonografia. **Resultados:** foram incluídos 99 pacientes: 63% mulheres, 59 ($\pm 6,6$) anos; IMC 28 ($\pm 4,8$); MELD 9.7 ($\pm 3,4$); 80% Child-Pugh A EH foi inválida em 2 pacientes e a ES em 19. Plaquetas foram 136.000 (± 54.000), EH 24 kPa (± 12) and EE 53 kPa (± 18). 54% dos pacientes tinham varizes esofágicas, 40% de pequeno e 14% de grosso calibre. Cinco por cento apresentavam varizes gástricas e 55%

VGE. Plaquetas (120.000 ± 45.000 vs 155.000 ± 57.000), EH ($28,4 \pm 13,1$ vs $18,4 \pm 7,6$ kPa) e EE ($59,5 \pm 17,0$ vs $43,3 \pm 17,9$ kPa) foram significativamente diferentes entre pacientes com ou sem VGE ($p < 0,05$). Na análise pela AUROC, os melhores pontos para detecção de VGE foram: 136.000 plaquetas (AUROC 0,67, 95% IC: 0,57- 0,76), EH 18,6 kPa (AUROC 0,75, 95% IC: 0,65-0,83) e EE 55 kPa (AUROC 0,74, IC: 0,63-0,83). De acordo com Baveno VI, dentre os 76 pacientes nos quais a EDA foi indicada, 48 (63%) de fato tinham VGE e 28 não tinham. Dentre os 21 pacientes sem indicação de EDA, 15 (71%) realmente não tinham VEG e apenas 6 tinham. Destes 6 que não tiveram a profilaxia avaliada, todos tinham varizes de fino calibre. Em dois deles a EE foi não válida e nos outros quatro foi: 21,1; 26,3; 32,5; e 70,6 kPa. **Conclusão:** Os pontos de corte de plaquetas e EH propostos pelo Baveno VI tiveram bom desempenho na avaliação da indicação de profilaxia primária de sangramento varicoso. A EE não contribuiu em reduzir o número de EDAs.

Biomarcador urinário Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin como preditor de não resposta à terapia combinada com albumina e terlipressina em pacientes com síndrome hepatorenal

Rafael O. Ximenes, Claudia Helou, Denise Barbeiro, Heraldo Souza, Beatriz Migita, Daniel Mazo, Luiz Augusto D'Albuquerque, Flair Carrilho, Alberto Farias. Orientador: Alberto Queiroz Farias.

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, SP, Brasil.

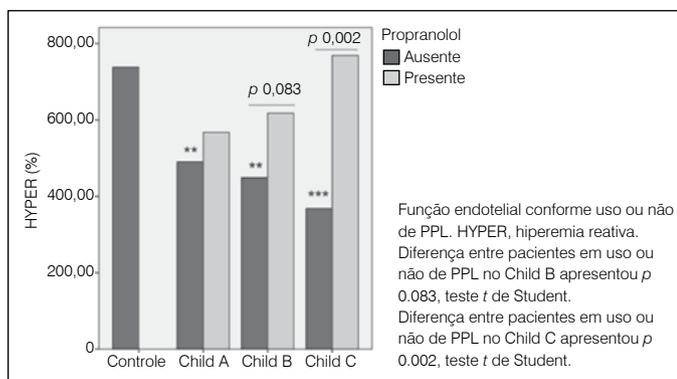
Objetivo: O tratamento padrão da síndrome hepatorenal (SHR) é a combinação de vasoconstrictores e albumina humana endovenosa. A taxa de resposta ao tratamento é de até 60%, com ocorrência de eventos adversos graves em cerca de 10% dos casos. Os atuais preditores clínicos e laboratoriais de resposta têm acurácia diagnóstica limitada, levando à administração de tratamento ineficaz, altos custos assistenciais e risco de eventos adversos aos pacientes. O NGAL (*Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin*) é um novo biomarcador de lesão tubular renal. Seus níveis urinários variam conforme a etiologia da lesão renal aguda nos pacientes com cirrose, sendo mais elevado naqueles com necrose tubular aguda. Formulamos a hipótese de que os níveis urinários de NGAL poderiam identificar dentre os pacientes que preenchem critérios para SHR aqueles que não irão responder ao tratamento por já terem lesão tubular renal instalada. O objetivo do estudo foi avaliar a utilidade do NGAL urinário como preditor de não resposta ao tratamento combinado com albumina e terlipressina em pacientes com SHR. **Material e métodos:** Foi realizado um estudo prospectivo em um hospital terciário (Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP) entre junho de 2013 e novembro de 2015. Os critérios de inclusão foram: a) diagnóstico de cirrose; b) idade > 18 anos; c) SHR diagnosticada conforme os critérios do *International Club of Ascites*; d) assinatura do termo de consentimento informado para participação no estudo. Os critérios de exclusão foram: a) comorbidades sistêmicas graves; b) choque; c) insuficiência renal crônica; d) nefropatia intrínseca; e) uso de drogas nefrotóxicas; f) diálise previamente à inclusão no estudo; g) transplante hepático previamente à inclusão. Foram colhidas amostras de sangue e urina para a determinação dos níveis séricos de catecolaminas, atividade plasmática de renina e níveis urinários de NGAL em até 6 horas do diagnóstico da SHR. Os pacientes receberam o tratamento padrão com albumina e terlipressina por até 14 dias. **Resultados:** Quarenta e nove pacientes foram incluídos, dos quais 24 (49%) não responderam ao tratamento. As variáveis associadas a não resposta foram NGAL urinário ($p=0,020$), albumina sérica ($p=0,046$), INR ($p=0,01$), MELD ($p=0,009$) e fração de excreção de ureia ($p=0,003$). Os níveis medianos de NGAL urinário foram de 728,8 $\mu\text{g/L}$ dentre os não respondedores e 182,9 $\mu\text{g/L}$ nos pacientes respondedores. O NGAL urinário apresentou uma área sob a curva ROC de 0,69 para prever não resposta ao tratamento combinado, com o melhor ponto de corte de 214,4 $\mu\text{g/L}$. Com este ponto de corte, a acurácia foi de 69%, sensibilidade 83%, especificidade 56%, valor preditivo positivo 65% e valor preditivo negativo 78%. A razão de verossimilhança positiva foi de 1,886 e a razão de verossimilhança negativa 0,304. Pacientes com NGAL urinário acima de 214,4 $\mu\text{g/L}$ tiveram um *odds ratio* de 6,36 para não resposta ao tratamento. **Conclusões:** Os níveis urinários de NGAL são clinicamente úteis para prever não resposta ao tratamento combinado com terlipressina e albumina em pacientes que preenchem critérios diagnósticos para SHR.

Propranolol melhora a disfunção endotelial na cirrose avançada: a hipótese da "exaustão endotelial"

Anderson Brito de Azevedo Silva. Orientador: Cristiane Alves Villela Nogueira, Renata de Mello Perez e Raquel Carvalho Castiglione.

Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (UFRJ), Rio de Janeiro, Brasil.

Introdução: Recentemente, o uso de beta-bloqueadores não seletivos (BBNS) na cirrose, principalmente na doença avançada, tem sido alvo de polêmica na literatura. Krag e cols sugeriram que doentes com ascite refratária teriam mortalidade aumentada com uso de BBNS, por provável piora na perfusão orgânica. Sabe-se que, para adequada perfusão orgânica, é necessário bom funcionamento endotelial. A função endotelial é refletida pela capacidade de produzir óxido nítrico (NO) e vasodilatar em resposta a um estímulo. Nosso objetivo foi avaliar a função endotelial nos diferentes estágios da cirrose, e a influência do propranolol nesses achados. **Metodologia:** Foram incluídos 83 indivíduos no estudo, 20 indivíduos saudáveis constituíram o grupo controle e 63 eram pacientes com cirrose hepática, sendo 20 Child-Pugh A, 20 Child-Pugh B e 23 Child-Pugh C. As características basais são descritas na tabela 1. Os pacientes foram submetidos à Pletismografia de Oclusão Venosa, método secular de avaliação da função endotelial que analisa o aumento do diâmetro do antebraço após 5 min de isquemia arterial, com interrupção do retorno venoso, refletindo assim a capacidade do endotélio promover a vasodilatação arterial e aumento do fluxo em resposta à isquemia (HIPER%). **Resultados:** Na ausência do PPL, o fluxo sanguíneo basal apresentou diferença entre os grupos avaliados, demonstrando um fluxo maior nos pacientes com cirrose, sendo 1.82, 2.79, 2.15 e 3.14 ml/min/100 ml de tecido, nos grupos controle, Child-Pugh A, B e C; respectivamente. A análise entre os grupos demonstrou diferença significativa entre o grupo controle e Child-Pugh C, com 1.82 vs. 3.14 ml/min/100ml de tecido, $p=0.03$. Quando submetidos à isquemia, os grupos apresentaram



Variável	Controle (n = 20)	Child A (n = 20)	Child B (n = 20)	Child C (n = 23)	p-valor
Idade (anos)	56±9	59±6	57±7	57±10	0.70
Sexo (M/F)	8/12	13/7	8/12	12/11	0.33
Etiologia					
Viral/Álcool/NASH/ Outras	NA	17/1/1/1	17/2/0/1	15/3/2/3	0.58
Propranolol					
Sim	NA	6	14	13	0.03
Não	NA	12	6	10	
Dose (mg)	-	50±17	64±28	60±37	0.64
Bilirrubina sérica (mg/dl)	0.6±0.3	1.2±0.6	1.7±0.6	3.7±2.6	0.001
Albuminaséica (g/dl)	4.4±0.3	3.8±0.6	3.3±0.6	2.9±0.5	<.0001
Tempo de Ativação de Protrombina (Paciente - Controle)	0.7±0.4	2.4±1.5	6.1±3.8	7.6±3.6	<.0001
Ascites					
Ausente		18	7	1	
Leve/Moderada	NA	2	10	13	<.0001
Tensa/Refratária		0	3	9	
Encefalopatia Hepática					
Não	NA	20	12	9	
Sim		0	8	14	0.002
Fluxo Basal (ml/min/100ml)					
Propranolol -	1.82±0.71	2.79±0.96	2.15±0.75	3.14±2.03	0.03
Propranolol +	-	1.71±0.70	1.85±0.57	1.45±0.46	0.196

* $p < 0.05$ vs controle (Comparação múltipla entre grupos por *post Hoc* de Tukey).

diferentes percentuais de hiperemia reativa. Foram observados valores mais elevados no grupo controle, HIPER de 739%, com decréscimo proporcional à gravidade da cirrose, sendo 490% no Child-Pugh A, 448% no B, e com o menor valor sendo observado no grupo Child-Pugh C, com 368% de HIPER, $p < 0.001$. Na presença do PPL, não houve diferença significativa do fluxo basal entre os grupos, havendo redução do fluxo sanguíneo em todos os cirróticos, principalmente no Child-Pugh C, obtendo-se fluxo de 1.45 ml/min/100ml de tecido neste grupo, $p=0.196$. Quanto à função endotelial, a hiperemia reativa na presença de PPL apresentou valores elevados de forma progressiva conforme gravidade da doença, apesar de não ter alcançado significância estatística, sendo 567, 617 e 768% no Child-Pugh A, B e C respectivamente, $p=0.344$. A diferença entre ausência de PPL e presença de PPL, com relação a HIPER, foi maior no Child C, variando cerca de +400% na presença do PPL, $p=0.002$. **Conclusão:** Os pacientes cirróticos apresentam disfunção endotelial progressiva conforme gravidade da doença, na ausência de propranolol. Esta disfunção endotelial pode estar relacionada a um possível mecanismo de "exaustão endotelial", decorrente de vasodilatação crônica por produção excessiva de NO mantida. O PPL parece proteger o cirrótico desse mecanismo, contribuindo para a melhora da função endotelial em pacientes com cirrose avançada.

Da cirrose estável à insuficiência hepática crônica agudizada: níveis circulantes de citocinas estão relacionados ao prognóstico em diferentes estágios da cirrose

Josiane Fischer. Orientador: Leonardo de Lucca Schiavon.

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), SC, Brasil.

Objetivos: Investigar o significado clínico e o papel prognóstico dos níveis de IL-6, IL-10 e IL-17 em pacientes com cirrose estável e em cirróticos hospitalizados por descompensação aguda da doença. **Materiais e métodos:** Estudo prospectivo incluiu duas coortes de pacientes adultos com cirrose acompanhados no HU-UFSC. O primeiro grupo foi composto por pacientes com cirrose estável atendidos no Ambulatório inicialmente avaliados a partir de junho de 2013 a fevereiro de 2014 ($n = 118$). O segundo grupo incluiu pacientes admitidos na unidade de emergência por descompensação aguda (DA) de cirrose hepática entre janeiro de 2011 e agosto de 2013 ($n = 130$). Insuficiência hepática crônica agudizada (ACLF) foi definida como proposto pelo consórcio EASL-CLIF. O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina. A determinação quantitativa da IL-6, IL-10 e IL-17A em soro foi realizada utilizando um kit de citometria de fluxo, Cytometric Bead Array (CBA) (BD Biosciences, San Diego, CA). Análises bivariadas e multivariadas foram realizadas para investigar o papel prognóstico das citocinas. Os pontos de corte das variáveis foram escolhidos tendo como base curvas ROC. **Resultados:** **Concentrações das citocinas nos grupos de estudo:** as medianas de IL-6 e IL-10 foram significativamente mais elevadas nos pacientes cirróticos hospitalizados em relação aos estáveis e aos controles, bem como nos cirróticos estáveis em relação aos controles. Concentrações de IL-17 foram significativamente mais elevadas nos cirróticos estáveis em relação aos controles e em relação aos hospitalizados. **Concentrações de citocinas em portadores de cirrose estável:** os pacientes estáveis foram seguidos por uma mediana de 16 meses. Durante o acompanhamento eventos hepáticos ocorreram em 26 pacientes (22,0%), 11 hospitalizações por descompensação aguda da cirrose, 13 óbitos e 2 transplantes hepáticos. A análise univariada de Cox revelou que os níveis de IL-10 ($P = 0,002$), mas não de IL-6 e IL-17 foram associados à sobrevida livre de eventos. Foi realizada subsequentemente análise de regressão múltipla de Cox incluindo a IL-10 e outras variáveis classicamente associadas à menor sobrevida (classificação de Child-Pugh, MELD, descompensação prévia em ascite e encefalopatia). Maiores níveis de IL-10 (HR 1,534, 95% IC 1,155 – 2,038; $P = 0,003$) e a classificação de Child-Pugh B/C (HR 2,648, 95% IC 1,179 – 5,948; $P = 0,018$) se associaram de forma independente à menor sobrevida livre de eventos. A probabilidade de sobrevida de Kaplan-Meier foi de 86,6% nos pacientes com IL-10 $< 0,42$ pg/mL e 65,3% naqueles com valores $\geq 0,42$ pg/mL ($P = 0,003$). **Concentrações das citocinas em pacientes hospitalizados por descompensação aguda da cirrose:** Nos pacientes hospitalizados por descompensação aguda da cirrose, as concentrações de IL-6 se correlacionaram positivamente com os níveis de IL-10, leucócitos totais, creatinina, RNI, PCR, bilirrubinas, e MELD. Correlação negativa foi observada entre a IL-6 e os níveis de sódio

de albumina. De forma semelhante, as concentrações de IL-10 foram positivamente correlacionadas à contagem de leucócitos totais, creatinina, PCR, bilirrubinas, e MELD. Correlação negativa foi observada entre a IL-10 e os níveis de albumina. Os níveis de IL-17 foram correlacionados positivamente com a contagem de leucócitos, níveis de PCR, bilirrubina total e MELD. Correlação negativa foi observada entre a IL-17 e os níveis de sódio e de albumina. Durante o seguimento de 90 dias, 39 pacientes morreram (30%). Foi realizada análise de regressão logística incluindo as variáveis MELD, Child-Pugh C, ACLF na admissão, ascite, infecção bacteriana, sódio, PCR, IL-6, IL-10 e IL-17. Nesta análise, a mortalidade em 90 dias foi independentemente associada com a presença de ascite (OR 6,286, 95% IC 1,826 – 21,635; $P = 0,004$), MELD (OR 1,300, 95% IC 1,175 – 1,439; $P < 0,001$) e IL-6 (OR 1,002, 95% IC 1,000 – 1,004, $P = 0,029$). A AUROC da IL-6 para prever mortalidade em 90 dias foi de $0,779 \pm 0,046$. A probabilidade de sobrevivência de Kaplan-Meier foi de 90,0% nos indivíduos com IL-6 < 21 pg/mL e 46,7% naqueles com IL-6 ≥ 21 pg/mL ($P < 0,001$, Log-Rank Test). Com este ponto de corte, as concentrações de IL-6 atingiram acurácia de 73%, sensibilidade de 82%, especificidade de 69%, valor preditivo positivo de 53% e valor preditivo negativo de 90% para prever mortalidade em 90 dias.

Desempenho das citocinas para o diagnóstico da infecção bacteriana na cirrose: Infecções bacterianas nas primeiras 48 horas de internação foram diagnosticadas em 39 pacientes (30%). Na análise de regressão logística, infecção bacteriana diagnosticada nas primeiras 48 horas de internação foi independentemente associada com a presença de ascite (OR 4,809, 95% IC 1,808 – 12,787; $P = 0,002$), PCR (OR 1,015, 95% IC 1,005 – 1,025; $P = 0,004$) e IL-6 (OR 1,003, 95% IC 1,000 – 1,005, $P = 0,022$). As áreas sob as curvas para o diagnóstico de infecção bacteriana da IL-6 e PCR foram de $0,831 \pm 0,043$ e $0,763 \pm 0,048$, respectivamente. No ponto de corte de 23 pg/mL, a IL-6 exibiu acurácia de 76%, sensibilidade de 74%, especificidade de 77%, valor preditivo positivo de 58% e valor preditivo negativo de 88%. PCR acima de 15 exibiu acurácia de 69%, sensibilidade de 71%, especificidade de 69%, valor preditivo positivo de 49% e valor preditivo negativo de 85%.

Evolução nos níveis de citocinas durante os três primeiros dias de internação: Níveis de citocinas foram avaliados em dois momentos (1^o e 3^o dia de internação) em 74 pacientes. Os níveis de IL-6 não apresentaram alterações significativas quando comparadas as duas dosagens, independente do desfecho. Uma redução significativa de IL-10 no terceiro dia foi observada tanto nos sobreviventes (1,58 pg/mL vs. 0,56 pg/mL; $P < 0,001$) quanto naqueles que evoluíram para óbito (3,74 pg/mL vs. 1,33 pg/mL; $P = 0,013$). Houve uma tendência a aumento dos níveis de IL-17 no terceiro dia (0,62 pg/mL vs. 3,87 pg/mL; $P = 0,088$). Quando avaliados quanto ao desfecho, essa tendência a aumento ficou restrita aos indivíduos que sobreviveram em 90 dias, porém sem diferença estatística (0,00 pg/mL vs. 3,16 pg/mL; $P = 0,538$). De forma contrária, pacientes que evoluíram para óbito apresentaram tendência à queda nos níveis de IL-17 no terceiro dia (31,67 pg/mL vs. 19,17 pg/mL; $P = 0,055$).

Concentrações de IL-6, IL-10 e IL-17 em pacientes com acute-on-chronic liver failure: Trinta pacientes apresentaram ACLF na admissão e outros sete evoluíram com a complicação até o terceiro dia de internação, sendo então avaliados em conjunto. As medianas de IL-6 nos pacientes com infecção bacteriana com ou sem ACLF foram significativamente mais elevadas do que nos indivíduos sem nenhuma das duas complicações ($P < 0,05$). Curiosamente, níveis mais elevados de IL-6 também foram observados nos pacientes com ACLF em relação àqueles sem ACLF ou infecção, mesmo na ausência de infecção como fator precipitante (21,97 pg/mL vs. 11,01 pg/mL; $P = 0,039$). Indivíduos com infecção apenas não apresentaram níveis de IL-6 significativamente diferentes dos pacientes com ACLF apenas (22,14 pg/mL vs. 21,97 pg/mL; $P = 0,506$). As concentrações de IL-10 foram significativamente mais elevadas nos pacientes que apresentaram ACLF associado à infecção em relação a todos os demais grupos ($P < 0,05$). De forma semelhante, os níveis de IL-17 foram significativamente mais elevados nos pacientes com ACLF associada à infecção quando comparados aos pacientes sem nenhuma das complicações ($P = 0,025$) ou com infecção apenas ($P = 0,040$). Quando consideramos apenas os 37 pacientes com ACLF nos primeiros três dias de internação, as concentrações de IL-6 não diferiram entre aqueles que evoluíram para óbito até o nonagésimo dia dos demais (54,19 pg/mL vs. 44,24 pg/mL; $P = 0,371$). Maiores níveis de IL-10 (3,80 pg/mL vs. 2,00 pg/mL; $P = 0,052$) e de IL-17 (15,78 pg/mL vs. 0,00 pg/mL; $P = 0,034$) foram associados à evolução para óbito em pacientes com ACLF.

Conclusões: Os níveis de IL-6, IL-10 e IL-17 estão elevados na cirrose hepática, especialmente nas suas formas mais graves. Em pacientes estáveis, uma menor sobrevida livre de eventos foi relacionada a níveis mais elevados da citocina anti-inflamatória IL-10. Em contraste, uma resposta pró-inflamatória mais intensa, representada pelos níveis mais elevados de

IL-6, foi relacionada de forma independente à presença de infecções bacterianas e óbito em pacientes hospitalizados por descompensações agudas. ACLF foi caracterizada por uma marcada inflamação sistêmica mesmo na ausência de infecções. Porém, em pacientes com ACLF, uma resposta anti-inflamatória mais intensa parece estar associada à pior prognóstico.

HEPATITE VIRAL, CIRROSE E TRANSPLANTE

Debatedores: Edmundo Pessoa de A. Lopes Neto (PE), Mario Reis Álvares da Silva (RS), Mario Guimarães Pessoa (SP)

Avaliação funcional das plaquetas em pacientes com cirrose e sua relação com o risco de sangramento após ligadura elástica de varizes esofágicas

Evandro de Oliveira Souza. Orientador: Alberto Queiroz Farias.

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, SP, Brasil.

Introdução: O sangramento por queda de escara é uma complicação potencialmente letal da ligadura elástica de varizes de esôfago. Embora os fatores de risco tenham sido pouco explorados na literatura, admite-se que a plaquetopenia estaria implicada, uma vez que, in vitro, a geração de trombina é reduzida se a contagem de plaquetas for inferior $56 \times 10^3/\text{mm}^3$. Entretanto, função plaquetária está preservada na cirrose pelo aumento compensatório dos níveis do fator de von Willebrand (FvW) e diminuição da protease ADAMTS13, que o cliva. Deste modo, os pontos de corte para contagem plaquetária utilizados na prática clínica não refletiriam a compensação funcional e, portanto, o risco de sangramento após procedimentos.

Objetivos: O objetivo principal foi avaliar se o número e a função das plaquetas influenciam na frequência do sangramento pós-ligadura elástica de varizes de esôfago. **Pacientes e métodos:** 1) Casuística. Foram incluídos pacientes da Divisão de Gastroenterologia e Hepatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, com o diagnóstico de cirrose, de diferentes etiologias, encaminhados para realização de ligadura elástica como profilaxia primária ou secundária de sangramento por varizes de esôfago. Os critérios de inclusão foram: a) varizes de esôfago de médio ou grosso calibre; b) idade acima de 18 anos; c) concordância em participar do estudo. Os critérios de exclusão foram: a) doenças pulmonares e cardíacas graves; b) carcinoma hepatocelular avançado; c) insuficiência renal com uremia ou dialítica; d) uso de qualquer droga que interfere na coagulação. 2) Métodos. Imediatamente antes da realização da endoscopia digestiva, foi coletada amostra de sangue venoso para a determinação dos seguintes testes de coagulação: contagem de plaquetas, dosagem de antígeno e atividade do fator de von Willebrand, dosagem da protease ADAMTS13 e o Impact-R®. O Impact R® avalia a função plaquetária (adesão e agregação), simulando, in vitro, o fluxo laminar do sangue. O sistema é baseado na imobilização de proteínas plasmáticas em uma superfície plástica na qual as plaquetas aderem e agregam. A imagem resultante é captada e analisada por "software" específico, que calcula a superfície coberta (SC) e o tamanho do agregado (AS). A SC é diretamente proporcional à contagem plaquetária. Os pacientes foram estratificados segundo a ocorrência de sangramento após a ligadura elástica e classificados segundo os estádios de Child-Pugh e MELD. O desfecho primário do estudo foi a ocorrência do sangramento por queda da escara da ligadura elástica. **Resultados:** Foram incluídos 111 pacientes, divididos em dois grupos: sem sangramento ($n=105$) e com sangramento ($n=6$). Os dois grupos não diferiram significativamente em relação a idade, gênero, etiologia e Child-Pugh, presença de sinais vermelhos e gastropatia hipertensiva. O valor médio do MELD foi $13 \pm 3,6$ ($12,6 \pm 3,3$ no grupo sem sangramento e $16 \pm 5,9$ no grupo com sangramento; $p=0,025$). Em relação aos exames de função plaquetária encontramos SC de $7 \pm 4\%$ e AS de $52 \pm 24 \mu\text{m}^2$ (valores de referência são: 7,5% para o SC e $25 \mu\text{m}^2$ para o AS). Os níveis de FvW foram $369 \pm 157\%$ para o antígeno e $336 \pm 149\%$ para atividade (valores de referências: antígeno: 42-176% e atividade: 40-165%). Os valores de ADAMTS13 foram $73 \pm 24\%$ (valor de referência: 40-130%). Na comparação entre pacientes sem e com sangramento após ligadura, não observamos diferenças na contagem plaquetária, na SC ($7,1 \pm 4$ versus $7,2 \pm 6,2$; $p=0,967$), AS ($52,7 \pm 23,7$ versus $48,5 \pm 26,2$; $p=0,678$), FvW ($371 \pm 160\%$ versus $331 \pm 69\%$; $p=0,577$), atividade do FvW ($338 \pm 153\%$ versus $298 \pm 69\%$; $p=0,527$) ou ADAMTS13 ($71 \pm 25\%$ versus $70 \pm 17\%$; $p=0,929$). A presença de varizes de grosso calibre aumentou o risco de sangramento em 6 vezes (OR:6,4; IC95%, 1,1 \pm 37) e a profilaxia secundária foi relacionada a risco 7 vezes maior de sangramento (OR:7,8;

IC95%, $0,8 \pm 69$). **Conclusões:** O sangramento após ligadura elástica de varizes de esôfago não foi relacionado a nenhum parâmetro de função plaquetária. A plaquetopenia foi funcionalmente compensada pelo aumento do FVV, com manutenção da capacidade de adesão e agregação plaquetária. Pelo fato de estar compensada, a plaquetopenia não aumentou o risco de sangramento após ligadura elástica de varizes. Paciente com escore MELD aumentado tiveram maior risco de sangramento após ligadura.

Síndrome metabólica, risco cardiovascular e escore de cálcio coronariano após o transplante de fígado

Lívia Melo Carone Linhares. Orientador: Claudia Pinto Marques Souza de Oliveira e Luiz Augusto Carneiro D'Albuquerque.

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, SP, Brasil.

Introdução: A sobrevida a curto prazo (até 1 ano) após o transplante de fígado aumentou nas últimas décadas, e hoje ultrapassa 80%. Apesar disso, a sobrevida a longo prazo não parece estar crescendo na mesma proporção. A explicação pode estar relacionada à observação de que a prevalência da síndrome metabólica (SM) e doenças relacionadas parece estar aumentando nos indivíduos transplantados e, inclusive, superando a da população geral. Estima-se que 19 a 42% da mortalidade não relacionada ao fígado é atribuível a eventos cardiovasculares. O escore de cálcio coronariano (ECC) é uma ferramenta não invasiva, importante para estimar o risco cardiovascular em indivíduos assintomáticos, e que pode trazer benefícios na estratificação de risco dos pacientes transplantados. **Objetivos:** Avaliar os efeitos do transplante hepático a longo prazo no metabolismo e no sistema cardiovascular; estudar o papel dos biomarcadores séricos de aterosclerose e do escore de cálcio coronariano (ECC) na estratificação de risco cardiovascular após o transplante de fígado. **Pacientes e métodos:** No período de julho de 2009 a junho de 2010, 126 pacientes foram submetidos ao transplante de fígado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Destes, 72 indivíduos concluíram o primeiro ano de acompanhamento. Foram excluídos do estudo pacientes com idade <18 anos, portadores de doenças malignas, portadores de hepatite C em tratamento com interferon, bem como os que apresentavam sinais clínicos de infecção ou suspeita de rejeição. Sendo assim, 44 pacientes participaram da primeira fase do estudo (após um ano), e 36 indivíduos concluíram a segunda fase, no quarto ano após o transplante. Em ambas as fases foram avaliados: dados antropométricos, presença de síndrome metabólica (critérios do NCEP/ATP III) e comorbidades, exames bioquímicos (perfil lipídico, glicêmico, enzimas hepáticas, dentre outros), escore de Framingham (EF) e biomarcadores séricos de aterosclerose (moléculas solúveis de adesão celular- sVCAM-1 e sICAM-1; amiloide sérico A-ASA; mieloperoxidase- MPO). Ao final do seguimento foi realizada tomografia de coronárias para obtenção do ECC. **Resultados:** A população estudada era composta por 24 (66,7%) indivíduos do gênero masculino, 50% brancos, com idade média de 53,8 anos e índice de massa corpórea (IMC) médio de $27,1 \text{ kg/m}^2$ na avaliação final. A prevalência de hipertensão, dislipidemia e síndrome metabólica aumentou ao longo do tempo, de 41,7% para 66,7% ($p=0,064$), de 33,3% para 58,3% ($p=0,049$) e de 25% para 50% ($p=0,049$), respectivamente. A mediana do E aumentou de 7,5% para 21% ($p=0,022$), demonstrando que houve incremento significativo no risco cardiovascular em 10 anos, alterando inclusive a classificação de baixo para alto risco. Com relação ao ECC, 25% dos pacientes apresentou grau de calcificação de moderado a severo. Encontramos valores mais elevados do ECC para pacientes dislipidêmicos ($p=0,011$) e hipertensos ($p=0,004$). Pacientes que possuíam critérios para SM também apresentaram valores do ECC maiores do que os outros ($p=0,018$). Após 4 anos de transplante, cinco indivíduos (13,9%) já haviam apresentado pelo menos um evento cardiovascular. Pacientes com história de evento cardiovascular prévio obtiveram valores mais elevados do ECC quando comparados aos que não tinham história de morbidade cardiovascular ($p=0,001$). Observamos ainda uma correlação significativa e direta entre ECC e idade, glicemia, hemoglobina glicosilada e triglicérides na análise do quarto ano. Conforme era esperado, observamos uma correlação estatisticamente significativa, direta e forte, entre o escore de Framingham e o ECC ($p<0,001$). Quando comparamos os níveis de biomarcadores de aterosclerose, observamos um aumento significativo de todos eles, do primeiro em relação ao quarto ano ($p<0,001$). **Conclusões:** O risco cardiovascular e a prevalência de SM aumentam significativamente do primeiro ao quarto ano após o transplante hepático, o que sabidamente tem impacto na sobrevida tardia dos pacientes transplantados. O ECC demonstrou ser

útil na avaliação dos pacientes transplantados, e provavelmente é capaz de melhorar e complementar a estratificação de risco, e assim, auxiliar na prevenção de eventos cardiovasculares no futuro.

Avaliação de mutações de resistência ao tratamento com análogos de nucleos(t)ídeos e de escape vacinal do vírus da hepatite B (VHB) em pacientes com hepatite crônica

Sidelcina Rugieri Pacheco. Orientador: Luciano Kalabric Silva.

Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz).

Introdução: A hepatite B (VHB) é uma infecção dinâmica crônica, que apesar de existir programas de imunização e tratamento antiviral disponível, existe o risco de emergência de mutações de resistência aos análogos de nucleos(t)ídeos (AN) que devem ser rastreadas, devido as suas implicações biológicas e clínicas. O Brasil disponibiliza pelo Sistema Único de Saúde (SUS) cinco drogas para o tratamento antiviral: IFN (interferon- α), LAM (lamivudina), ADF (adefovir), ETV (entecavir) e TDF (tenofovir) e um guia de conduta clínica para orientar o tratamento no território nacional, o Protocolo de Diretrizes Terapêuticas para Hepatite B e co-infecções. **Objetivo:** Avaliar as mutações de resistência aos AN, mutações de escape vacinal e genótipos circulantes em pacientes com hepatite B crônica em dois centros de referência em Hepatites, na Bahia (região Nordeste) e no Acre (região Norte) do Brasil. **Metodologia:** Foram utilizadas ferramentas de biologia molecular e bioinformática, através de nested PCR e sequenciamento direto das amostras, para rastrear as mutações de resistência, a região alvo foi a transcriptase reversa (RT) do gene P com 1032 pares de bases e as mutações de escape vacinal foi a região do gene S do VHB, como também os genótipos e subgenótipos do VHB. Para confirmar o tipo de vírus, as sequências obtidas foram analisadas usando a ferramenta BLAST GenBank. A análise genotípica do VHB foi realizada por comparação das sequências referências com as sequências obtidas a partir de VHB-DNA isolado a partir dos pacientes com sequências de consenso do VHB. As sequências de nucleotídeos foram analisadas utilizando os softwares DNA Star 5.0 e 4.0 MEGA. Mutações de resistência (RT), genótipos, subgenótipos e mutações no gene S foram determinadas por análise filogenética utilizando sequências publicadas. Paralelamente, foi realizado fenotipagem virtual por dois algoritmos, disponível no site da Universidade de Stanford (<http://hivdb.stanford.edu/HBV/HBVseq/development/HBVseq.html>) e no site do Max-Planck-Institut für Informatik, Alemanha (<http://hbv.geno2pheno.org/index.php>). **Resultados:** Foram incluídos 527 pacientes durante o período de 2011-2015, sendo 320 pacientes do Hospital Universitário Professor Edgard Santos HUPES/UFBA, região Nordeste e 207 da Fundação Hospital do Acre FUNDHACRE/AC, região Norte. Os pacientes que representam a região Nordeste foram 59,3 % do sexo masculino e uma média de idade de $44,75 \pm 12,4$ DP, os pacientes da região Norte 42% foram do sexo masculino e a média de idade foi de $40,36 \pm 13,9$ DP. Todos os pacientes incluídos apresentaram AgHBs persistente por mais de seis meses e 86,1% apresentaram AgHBe negativo. Foram sequenciadas 296 amostras dos pacientes com VHB crônica. Foram encontradas mutações de resistência primária aos análogos de nucleos(t)ídeos na Região Norte 1,2% (2), Região Nordeste 7,4% (8) e no global 3,8% (10). Os padrões de mutações de resistência primária encontrados foram: rtA194T, (3) rtL180M+M204V, rtL180M+M204I, rtS202I, rtM204I, rtA181S, rtA181E e rtA184S. Em relação ao escape vacinal a frequência para a Região Norte foi de 7,1% (11), Região Nordeste 8,4% (9) e no global 7,6% (20). Nos pacientes virgens de tratamento ($n=189$), a frequência de mutações de resistência foi de 6%, somente nas amostras da região Nordeste. Não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo com ou sem mutação dos pacientes virgens de tratamento. Não foram encontradas mutações de resistência nas amostras da região Norte. Os genótipos circulantes nas duas regiões foram A, D e F, e a região Nordeste foi encontrada o genótipo C (C2). A frequência dos subgenótipos na região Norte foi A1 59%, D1 1%, D2 2,9%, D3 10,5%, D4 6,7%, F1 7,6% e F2 12,4%. A frequência na região Nordeste foi de A1 86%, A2 4,7%, C2 0,9%, D2 0,9%, D3 0,9%, D4 0,9% e F2 5,6%. **Conclusão:** Os resultados demonstram a importância de rastrear e monitorar as mutações de resistência aos análogos de nucleos(t)ídeos e de escape vacinal devido à importância biológica, epidemiológica e clínica na conduta terapêutica. No Brasil poucos estudos foram realizados utilizando a epidemiologia molecular aplicada para hepatite B crônica, com o objetivo de rastrear as mutações de resistência com terapia antiviral em pacientes tratados com análogos de nucleos(t)ídeos ou virgens de tratamento, ou as mutações de escape vacinal, correlacionando com os genótipos e subgenótipos na região Norte

e Nordeste. Trata-se de um problema de saúde pública, a alteração da antigenicidade do AgHBs, que resulta nas mutações de escape vacinal e propagação e a emergência das mutações de resistência ao tratamento com análogos de nucleos(t)ídeos são uma realidade e uma urgência a ser enfrentada nos próximos anos.

Associação do polimorfismo *IL10-819C/T* e transtorno depressivo maior em pacientes com hepatite C crônica

Luciana Rodrigues da Cunha. Orientador: Luciana Diniz Silva.

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

Introdução e objetivos: Os transtornos depressivos têm prevalência elevada em pacientes com hepatite C crônica (HCC), no entanto, a fisiopatologia dos sintomas neuropsiquiátricos relacionados ao vírus da hepatite C (VHC) não foram completamente esclarecidos. Transtorno depressivo maior (TDM) e HCC têm sido associados com concentrações séricas elevadas de citocinas pró-inflamatórias. Polimorfismo de nucleotídeo único [*single nucleotide polymorphism* (SNP)] pode determinar alterações na regulação da resposta imunológica e inflamatória e, conseqüentemente, ocasionar o surgimento de doenças. Dessa maneira, o objetivo principal do presente estudo foi investigar se os polimorfismos dos genes que codificam as interleucinas (IL) *IL6-174G/C* e *IL10-819C/T* estavam associados ao TDM em pacientes cronicamente infectados pelo VHC. Baseado no conhecimento de que esses polimorfismos são funcionais, em adição ao objetivo descrito acima, foi avaliado se as relações da primeira análise influenciaram na concentração plasmática de citocinas. **Métodos:** Pacientes com HCC ($n=139$) foram incluídos de forma consecutiva e prospectiva [TDM(+)=46 e TDM(-)=93]. TDM foi diagnosticado pela *Mini-International Neuropsychiatry Interview* pela *Hamilton Depression Rating Scale*. Variáveis clínicas, laboratoriais e sociodemográficas foram avaliadas em pacientes com HCC com e sem TDM. A genotipagem das citocinas foi feita pela PCR em tempo real (RTq-PCR) e confirmada por sequenciamento. Concentrações plasmáticas de citocinas (pg/ml) foram mensuradas pelo método *Cytometric Bead Array*. Os dados foram analisados no software SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago IL, EUA). Análises univariadas e multivariadas foram realizadas para avaliar as variáveis que estavam independentemente associadas com TDM. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da UFMG. **Resultados:** Na análise multivariada, história prévia de TDM (RC=2,96; IC95% 1,08-8,10; $p=0,03$), diabetes mellitus (RC=2,77; IC95% 1,03-7,47; $p=0,04$) e polimorfismo de *IL10-819C/T* (RC=2,45 IC95% 1,06-5,69; $p=0,04$) estavam associados com TDM atual. *IL6-174G/C* ($p=0,27$) e *IL10-819C/T* ($p=1,00$) estavam em equilíbrio de Hardy Weinberg. No grupo de pacientes com TDM atual, carreadores de *IL10-819*T* tinham concentrações plasmáticas de TNF- α significativamente mais elevadas do que carreadores de *IL10-819*C* [mediana (IQR) 4,0(0,5) vs. 3,7(0,4), $p=0,03$]. Embora *IL6-174G/C* não tenha sido associado com TDM, carreadores de *IL6-174*C* tinham concentrações plasmáticas de IL-4 significativamente mais elevadas do que carreadores *IL6-174*G* [mediana (IQR) 4,4 (0,7) vs. 3,8 (0,8), $p=0,01$]. **Conclusões:** Para nosso conhecimento, este é o primeiro estudo a demonstrar que o alelo *IL10-819*T* está associado com TDM em pacientes com HCC. Ainda, foi demonstrado que esse polimorfismo influencia na concentração plasmática de TNF- α .

Variantes do metabolismo de vitamina D e progressão da hepatite C crônica: dados do HALT-C usando a plataforma dbGaP

Laura Alencastro de Azevedo. Orientador: Mário Reis Álvares-da-Silva.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), RS, Brasil.

Objetivos: A vitamina D tem recebido muita atenção nos últimos anos na avaliação das doenças hepáticas, uma vez que existe uma elevada prevalência de deficiência de vitamina D nestas doenças. Além disso, demonstrou-se que a vitamina D seria capaz de atenuar a fibrose hepática por meio de um efeito anti-TGF β -1/SMAD3 mediado pelo receptor nuclear de vitamina D (VDR). Nós hipotetizamos que, variantes genéticas envolvidas tanto no metabolismo da vitamina D quanto na interação VDR/SMAD3 poderiam afetar a evolução da fibrose hepática e a progressão da hepatite C crônica. **Material e métodos:** Quarenta e quatro polimorfismos

de nucleotídeo único (SNPs) relacionados com o metabolismo da vitamina D e com a progressão da hepatite C foram selecionados (genes *DHCR7*, *GC*, *CYP2R1*, *CYP24A1*, *CYP27B1*, *VDR*, *SMAD3* e *TGFB1*). Os dados do estudo foram obtidos da coorte HALT-C (*Hepatitis C Antiviral Long-term Treatment against Cirrhosis*) a partir da plataforma dbGaP (*database of Genotypes and Phenotypes*). Vinte e um polimorfismos foram genotipados nos dados originais (Plataforma Illumina) e vinte e três foram estimados por imputação genômica usando o programa Mach-Admix (v. 2.0.203). Seiscentos e oitenta e um pacientes com hepatite C crônica foram acompanhados durante quatro anos e avaliados para: piora da fibrose hepática (aumento de dois pontos na escala Ishak), descompensação hepática em indivíduos Ishak 5 ou 6 (presença de qualquer dos seguintes achados piora da gastropatia ou varizes esofágicas, escore Child-Pugh >7, peritonite bacteriana espontânea ou encefalopatia hepática), desenvolvimento de carcinoma hepatocelular e morte do fígado (morte relacionada ao fígado ou transplante de fígado). A manipulação dos dados do banco dbGaP e as análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa Plink (v. 1.07). **Resultados:** Neste estudo, seis SNPs tiveram associação com as variáveis estudadas: rs7041 (GC), rs222020 (GC) e rs2118610 (*SMAD3*) para piora da fibrose; rs1800469 (*TGFB1*) e rs3829251 (*DHCR7*) para descompensação hepática; e rs1562902 (*CYP2R1*) para carcinoma hepatocelular. Apenas o polimorfismo rs1800469 permaneceu estatisticamente associado à descompensação hepática após correção de Bonferroni ($P=0,0004759$). **Conclusão:** Embora nossos resultados não necessariamente excluam o envolvimento das variantes genéticas da vitamina D na progressão da hepatite C crônica, eles sugerem que a vitamina D participa, provavelmente, apenas de uma pequena parte da progressão da doença hepática na hepatite C crônica.

HEPATITE C

Debatedores: Antonio Eduardo Benedito Silva (SP), Cristiane Alves Villela Nogueira (RJ), Luciana Diniz Silva (MG)

Impacto das mutações de resistência na região NS3 do vírus da hepatite C na resposta ao tratamento com os novos inibidores de protease

Vanessa Duarte da Costa. Orientador: Elisabeth Lampe.

Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz).

Introdução: Nos últimos anos, o tratamento contra a hepatite C evoluiu de forma significativa, principalmente com o licenciamento de novas drogas antivirais de ação direta (DAA) que bloqueiam especificamente a ação de proteínas virais durante o ciclo replicativo do vírus. Esses compostos têm como alvo principal as proteínas não-estruturais NS3/4A protease, NS5B polimerase e NS5A proteína. Em 2011, dois inibidores de protease (IP), o Telaprevir e Boceprevir, foram os primeiros a serem aprovados para o tratamento de pacientes infectados com o genótipo 1 do HCV. O uso desses medicamentos aumentou consideravelmente as taxas de Resposta Viroológica Sustentada (RVS), porém, devido à ocorrência de numerosos e graves efeitos colaterais o seu uso foi interrompido. Em 2015, o protocolo clínico para a hepatite C incorporou a ação conjunta dos novos DAAs simeprevir, daclatasvir e sofosbuvir (direcionados, respectivamente, às proteínas virais NS3/4A, NS5A e NS5B). Apesar das altas taxas de RVS, a seleção de variantes virais com mutações de resistência constitui um dos fatores limitantes da eficácia da terapia antiviral com os novos DAAs. Dentre as mutações associadas à diminuição da eficácia ao simeprevir, a Q80K apresenta um significativo impacto negativo na resposta ao tratamento, além de apresentar uma alta prevalência entre pacientes infectados com o subtipo 1a em diversos países. **Objetivo:** Analisar a prevalência de mutações de resistência no domínio serino-protease da região NS3 do HCV e suas possíveis implicações na terapia antiviral com inibidores de protease em pacientes com hepatite C crônica. **Material e métodos:** A população do estudo incluiu um total de 65 amostras (1a: $n=47$; 1b: $n=18$) de pacientes virgens de tratamento ao simeprevir, sendo que destes 8 eram de pacientes não-respondedores (NR) ao tratamento prévio com a terapia dupla com Interferon/Ribavirina e 15 de NR pela terapia tripla com IP boceprevir ou telaprevir. As técnicas realizadas foram extração do RNA viral, reação de PCR com *primers* subtipo-específicos (RT-PCR e *Nested-PCR*), purificação e sequenciamento nucleotídico. As seqüências obtidas abrangendo os nucleotídeos 3466-3961 do HCV foram editadas, alinhadas e traduzidas para aminoácidos no programa MEGA 6.0. As mutações associadas à

resistência aos IP foram computadas após submissão ao site hcv.geno2pheno.org. Os principais sítios na proteína NS3 que conferem diferentes graus de resistência ao telaprevir e boceprevir estão localizados nas posições 36, 54, 55, 155, 156 e 170, para o grazoprevir nas posições 155, 156 e 168, para o paritaprevir nas posições 43, 155, 156 e 168, para o simeprevir estão localizadas nas posições 43, 80, 122, 155, 156, 168 e 170. A mutação V36A/L/M também é pontada em alguns estudos associada com resistência ao simeprevir. **Resultados:** As mutações V36M/L e R155K foram observadas apenas no subtipo 1a. A mutação V36L foi observada em 2 (28,6%) dos 7 pacientes NR à terapia dupla, enquanto que a V36M e a R155K em 5 (35,7%) e 1 (7,1%) dos 14 pacientes NR à terapia tripla, respectivamente. Em pacientes virgens de tratamento, a mutação V36M foi observada em 1 (3,8%) seqüência do subtipo 1a e a T54S em 1 (6,25%) do subtipo 1b. As posições 122, 156, 168 e 170, relacionadas com baixo a médio grau de resistência ao simeprevir, permaneceram conservadas em todas as amostras dos dois subtipos estudados. A mutação F43V, associada à resistência *in vitro* ao simeprevir foi observada em uma amostra de paciente NR à terapia dupla, indicando assim, maior possibilidade de falha terapêutica com uso do simeprevir. A mutação Q80K foi identificada em apenas um paciente (1/65; 1,5%) do subtipo 1b. **Conclusões:** Mutações nos sítios V36L/M e R155K foram observadas em maior proporção em seqüências de pacientes NR infectados pelo subtipo 1a em relação ao 1b, o que pode estar relacionado com uma maior taxa de falha terapêutica dos pacientes infectados pelo subtipo 1a. A mutação Q80K associada à resistência ao simeprevir não foi observada neste estudo em nenhum paciente infectado pelo subtipo 1a, no entanto foi detectada pela primeira vez no Brasil em uma cepa subtipo 1b em um paciente virgem de tratamento. A baixa prevalência (1,5%) da mutação Q80K contrasta com a observado em outros países, onde altas taxas são comuns, como nos EUA (40%) e Europa (4-16%), principalmente em pacientes infectados com o subtipo 1a. Os dados observados da baixa prevalência da mutação Q80K estão em concordância com os verificados em outros estados brasileiros, o que indica a provável circulação de cepas não resistentes ao simeprevir em todo território nacional e, por sua vez sugere a não necessidade de teste de resistência antes do início do tratamento com simeprevir em nosso país. Os resultados deste estudo demonstram a importância do conhecimento dos perfis mutacionais em variantes virais brasileiras para obtenção de dados nacionais, condizentes com a realidade brasileira, trazendo uma contribuição ímpar com dados científicos concretos a respeito da eficácia e alcance do tratamento antiviral com os novos DAAs.

Perfil imunológico de pacientes com hepatite C crônica e sua relação com dano hepático

Fabio Christiane de Oliveira Felix Cachem^{1,2}, Aleida Soraia Dias¹, Felipe Tavares Rodrigues¹, Letícia Lopes Marques Dephim¹, Gabriel Fernandes Teixeira¹, Adilson José de Almeida^{1*}. Orientadores: Carlos Eduardo Brandão¹, Cleonice Alves de Melo Bento^{1,2}.

1. Universidade Federal do Rio de Janeiro (UNIRIO), Rio de Janeiro, Brasil.
2. Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, Brasil.
(*In memoriam).

Objetivos: Vários estudos têm demonstrado que o padrão da resposta imune adquirida seguindo a infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) não apenas determina cura espontânea após a fase aguda, como também o desfecho na fase crônica da infecção. Nesse sentido, enquanto estudos apontam para um efeito protetor das células T CD4⁺ (Th1) e T CD8⁺ (Tc-1) produtoras de IFN- γ , o papel de citocinas produzidas pelas células Th17 na proteção e patogênese ainda não está bem esclarecido. Essa dificuldade em estabelecer a sua participação na hepatite C deve estar atrelada a sua complexa biologia funcional. Células T (CD4⁺ e CD8⁺) podem produzir não apenas a clássica citocina pró-inflamatória IL-17, como também IL-21. Enquanto a IL-21 têm sido descrita como uma citocina importante para a função das células T CD8 contra diferentes vírus, a IL-17 tem sido associada à lesão celular em doenças autoimunes por coordenar o recrutamento e ativação de fagócitos contra estruturas próprias do paciente. Diante do exposto, o presente estudo teve o objetivo de determinar se a frequência de diferentes subtipos e células Th17 e Tc-17 estaria relacionada com alguns parâmetros de lesão no fígado de pacientes com hepatite C crônica (HCC). Adicionalmente, como o fígado possui uma função crítica na remoção de produtos microbianos que translocam através do epitélio intestinal, nosso objetivo secundário foi avaliar se os níveis plasmáticos da molécula CD14 também estariam associados a progressão da HCC. **Material e métodos:** Pacientes: 25 pacientes (42 a 72 anos de idade) cronicamente infectados pelo vírus da Hepatite C (HCV) genótipo 1 foram recrutados do Hospital Universitário

Gaffrée e Guinle (HUGG), Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO). Enquanto a maioria, 60% (15/25), era virgem de tratamento, os restantes 40% (10/25) tinham falhado a terapia antiviral baseada na combinação do pegIFN/RBV. No estudo os seguintes critérios de exclusão foram adotados: a positividade clínica ou sorológica para HIV1/2, HBV e HTLV1/2; o uso de drogas imunossupressores; e indivíduos portadores de doenças autoimunes como artrite reumatoide e lúpus eritematoso. As informações clínico-laboratoriais sobre os pacientes, tais como exames laboratoriais de função hepática e o estadiamento da lesão do fígado, foram obtidas dos prontuários médicos. **Estimulação das células do sangue periférico ex vivo:** Amostras de sangue periférico foram colhidas de todos os indivíduos do estudo, alíquotas de sangue (2 mL) foram transferidas para placas de cultura de 24 poços e estimuladas por 4h na presença de ionomicina (600 ng/mL) e PMA (20 ng/mL) com brefeldina (1 μ g/mL). Durante a incubação as placas foram mantidas a 37°C em atmosfera úmida com 5% de CO₂. **Análise fenotípica por citometria de fluxo:** Para identificar a frequência de células TCD4⁺ e TCD8⁺ produtoras de IL-21, IL-17 e IFN- γ , as amostras de sangue total previamente estimuladas, ou não, foram submetidas à citometria de fluxo após marcação com diferentes combinações de anticorpos monoclonais (mAbs) fluoresceinados (BioLegend, San Diego, CA, USA). Resumidamente, as células foram marcadas inicialmente com mAbs anti-CD4-FITC ou anti-CD8-FITC, incubadas em câmara escura à temperatura ambiente. Após 20 minutos, as hemácias foram lisadas e as células fixadas usando a solução lise/fixação (eBioscience). Finalmente, as células foram permeabilizadas e marcadas intracelularmente com mAbs anti-IL-17-PE/Cy7, anti-IL-21-APC e anti-IFN- γ -APC e incubados no escuro a 4°C por 20 minutos. Terminado a incubação, a suspensão celular foi lavada e analisada no citômetro de fluxo Accuri C6 (Accuri™, Ann Arbor, MI, USA) e os dados foram analisados através do software Cflow (Accuri™, Ann Arbor, MI, USA). **Dosagem de citocinas plasmáticas:** Os plasmas obtidos do sangue total por centrifugação por 10 min à 1500 rpm foram submetidos a quantificação de diferentes citocinas através da técnica ELISA usando os kits BD OptEIA seguindo as instruções do protocolo fornecido pelo fabricante (BD, Pharmingen, SD). **Quantificação dos níveis plasmáticos de CD14 solúvel:** A dosagem plasmática da glicoproteína solúvel CD14 (sCD14) foi realizada através do imunoenensaio para o CD14 humano, utilizando o kit Quantikine® ELISA, de acordo com o protocolo descrito pelo fabricante (R&D Systems Inc.). **Análise estatística:** Todas as análises estatísticas foram realizadas através do programa de gráfico GraphPadPrism versão 5.0 para Windows (GraphPad software). A significância em todos os experimentos foi definida como $p < 0,05$. **Resultados:** Nossos resultados demonstraram que as concentrações IL-1 β , TNF- α e, principalmente, IL-6 *in vivo* foram positivamente correlacionadas com os níveis das transaminases alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e gama-glutamil transferase (gama-GT), assim como da fosfatase alcalina (FA). Os níveis dessas enzimas hepáticas também foram diretamente relacionados com a frequência de células T CD4⁺ (Th17) e TCD8⁺ (Tc-17) produtoras de IL-17. Adicionalmente, maior concentração de IL-1 β e IL-6 e maior frequência de células Th17 e Tc-17 foram observadas em pacientes com elevado grau de fibrose hepática. De forma interessante, os níveis periféricos de CD14 foram diretamente correlacionados com as concentrações *in vivo* de IL-6, TNF- α e IL1 β , com a frequência de células Th17 e Tc-17, e também com o grau de fibrose hepática. Por outro lado, a frequência de células T (CD4⁺ e CD8⁺) produtoras de IL-21 foi inversamente relacionada com os níveis das enzimas hepáticas e com o dano no fígado. De forma semelhante, a percentagem de células T, tanto CD4⁺ quanto CD8⁺, capazes de produzir simultaneamente IL-17 e IFN- γ parece se relacionar com melhor desfecho na hepatite C crônica. **Conclusões:** Em resumo nossos resultados sugerem que um balanço entre a frequência de células T produtoras de IL-17 e IL-21 pode ser o melhor marcador de progressão da doença hepática nos pacientes cronicamente infectados pelo HCV. Ademais, a correlação adversa entre os níveis periféricos de CD14 com grau de lesão hepática sugere que elevada translocação bacteriana pode contribuir para pior prognóstico da hepatite C crônica.

Análise da relação entre o nível sérico do sulfato de dehidroepiandrosterona (S-DHEA) e o estágio de fibrose hepática em pacientes com hepatite C crônica

João Marcello de Araujo Neto. Orientador: Henrique Sérgio Moraes Coelho, Renata Mello Perez e Cristiane Villela.

Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (UFRJ), Rio de Janeiro, Brasil.

Introdução: A infecção crônica pelo vírus da hepatite C induz fibrose

hepática, todavia, são pouco conhecidos os motivos pelos quais alguns pacientes progridem para fibrose avançada, ao passo que, outros permanecem com doença leve. Recentemente, foi descrita uma associação inversa entre os níveis séricos do sulfato de dehidroepiandrosterona (S-DHEA) e o estágio de fibrose hepática em pacientes com doença hepática gordurosa não-alcóolica. Alguns modelos animais sugerem que o DHEA tenha efeitos anti-fibróticos. Com estes dados, é possível supor que o S-DHEA tenha participação na formação de fibrose hepática. **Objetivo:** Comparar os níveis séricos de S-DHEA com o estágio de fibrose hepática em pacientes com hepatite C crônica. **Métodos:** Foram obtidas amostras de soro de 287 pacientes com hepatite C crônica submetidos a biópsia hepática. O S-DHEA foi medido por *electrochemoluminescenceimmunoassay*, posteriormente, comparado com a fibrose classificada de acordo com METAVIR. As análises comparativas foram realizadas para todos os graus de fibrose F0, F1, F2, F3 e F4, com as variáveis fibrose leve (F0-1) versus fibrose significativa (F2-4) e com as variáveis fibrose não avançada (F0-2) versus fibrose avançada (F3-4). **Resultados:** As medianas dos níveis séricos de S-DHEA foram 103 (26-462), 73 (5-391), 46 (4-425), 35 (6-292) e 28 (2-115) $\mu\text{g/dL}$ para os estágios de fibrose 0, 1, 2, 3 e 4 respectivamente com p valor < 0,001. As medianas dos níveis séricos de S-DHEA foram 74 (5-462) e 36 (2-425) $\mu\text{g/dL}$ para fibrose leve (F0-1) e significativa (F2-4), respectivamente com p valor < 0,001. As medianas dos níveis séricos de S-DHEA foram 64 (4-462) e 31 (2-292) $\mu\text{g/dL}$ para fibrose não avançada (F0-2) e avançada (F3-4), respectivamente com p valor < 0,001. A mesma relação foi encontrada quando o subgrupo de pacientes sem esteatose ou esteatohepatite foi analisado. Através de modelos de regressão logística binária para a variável dependente fibrose (categorizada como não avançada ou avançada), a associação entre níveis sérios mais baixos de S-DHEA e fibrose avançada ocorreu de forma independente de idade, gênero e da presença de diabetes *mellitus*, obesidade e esteatose. **Conclusão:** Níveis baixos de S-DHEA estão associados com fibrose hepática mais avançada em pacientes com hepatite C crônica.

Associação dos genótipos *IL10-1082AA* e *IL6-174GG* com sobrepeso/obesidade em pacientes com hepatite C crônica

Kiara GD. Diniz, Tatiana Bering, Diego A. Vieira, Marta Paula P. Coelho, Maria Thereza B. de Almeida, Adriana D. Gomes, César LL. Faria Jr, Rosângela Teixeira, Gifone A. Rocha, Maria Isabel TD. Correia, Dulciene M. Queiroz. Orientador: Luciana D. Silva.

Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (FMUFMG), MG, Brasil.

Introdução: Obesidade e hepatite C crônica (HCC) têm sido associadas ao aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias. Interleucina 6 (*IL-6*) é um mediador inflamatório que está implicado em uma variedade de processos metabólicos, incluindo a função dos adipócitos. Baixos níveis de *IL-10* têm sido relacionados à obesidade e à síndrome metabólica (SM). Polimorfismos de nucleotídeo único (*Single Nucleotide Polymorphisms* – SNPs) nos genes das citocinas podem afetar a regulação do sistema imunológico e os processos inflamatórios e, consequentemente, ocasionar o desenvolvimento de doenças. **Objetivo:** Investigar a associação entre os polimorfismos *IL10-1082A/G* e *IL6-174G/C* e excesso de peso nos pacientes com HCC. **Métodos:** Pacientes com HCC ($n=121$) foram incluídos de forma consecutiva e prospectiva [66 (54,5%) com sobrepeso/obesidade; 69 (57,0%) homens; média de idade $51 \pm 11,5$ anos; 42 (34,7%) SM; 43 (35,5%) com cirrose; 78 (64,5%) sem cirrose]. O grupo controle foi constituído por 163 doadores de sangue [(65,0%) sobrepeso/obesidade; 86 (52,8%) homens; média de idade $39,5 \pm 10,3$ anos]. Sobrepeso foi classificado pelo Índice de Massa Corporal (IMC) entre 25kg/m^2 e $29,9\text{kg/m}^2$ e obesidade foi definida como $\text{IMC} \geq 30\text{kg/m}^2$. O diagnóstico e o estadiamento da doença hepática foram baseados em parâmetros clínicos, bioquímicos, sorológicos, radiológicos e histológicos. SM foi diagnosticada de acordo com os critérios da Federação Internacional de Diabetes. A genotipagem de citocinas foi realizada por PCR em tempo real e confirmada por sequenciamento. Modelos de regressão logística foram usados (SPSS 17,0; $p < 0,05$). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da UFMG (COEP-ETIC 0404.0.203.000-10). **Resultados:** Os polimorfismos *IL6-174G/C* ($p=0,88$) e *IL10-1082A/G* ($p=0,76$) estavam em equilíbrio de Hardy Weinberg. Na análise multivariada, ajustada por sexo, idade e estágio da doença hepática, sobrepeso associou-se ao genótipo homocigoto *IL10-1082AA* ($\text{RC}=2,48$; IC95\% 1,14-5,36; $p=0,02$) e à SM ($\text{RC}=2,74$; IC95\%

1,22-6,15; $p=0,02$). O genótipo homocigoto *IL6-174GG* ($\text{RC}=3,80$; IC95\% 1,14-12,67; $p=0,03$), na análise multivariada ajustada por sexo, idade, SM e estágio da doença hepática, associou-se independentemente à obesidade. **Conclusão:** Este estudo demonstra que o genótipo homocigoto *IL10-1082AA* e a SM estão associados ao sobrepeso em pacientes com HCC. Ainda, o genótipo homocigoto *IL6-174GG* se associa à presença de obesidade nessa população.

Avaliação da infecção de megacariócitos e plaquetas pelo VHC e a influência na fisiopatologia da hepatite C

Watanabe CM, Braz AMM, Silva GF, Grotto RMT, Pardini MIMC. Orientadores: Paulo Eduardo de Abreu Machado, Márcorie de Assis Golim.

Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, São Paulo, Brasil.

A hepatite C acomete cerca de 130-150 milhões de pessoas em todo o mundo, estima-se que cerca de 500.000 pessoas/ano morrem devido ao acometimento desta moléstia. O diagnóstico, em muitos casos, acontece devido à sintomas não específicos como fadiga crônica, alterações endócrinas, dermatológicas e hematológicas como a plaquetopenia, porém a patogênese das manifestações extra-hepática é pouco conhecida. Desta forma, modelos que reproduzam a infecção *in vitro* pelo VHC se tornam necessários para que se possa compreender e esclarecer a relação entre estas desordens e o vírus da hepatite C (VHC). Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a infecção *in vitro* de megacariócitos e plaquetas pelo VHC. Para realização deste trabalho, amostras de medula óssea ($n=7$) oriundas do Hospital Amarel Carvalho – Jaú-SP de doadores saudáveis que consentiram participar do estudo foram coletadas no ato da doação no volume de 4mL por punção da crista ilíaca, sendo posteriormente processadas no Hemocentro de Botucatu/UNESP. Para a obtenção de megacariócitos, a alíquota de medula óssea foi diluída em tampão apropriado e submetido ao processo de separação celular por diferença de gradiente de densidade utilizando Percoll®. Por fim, estas células foram cultivadas em estufa de cultura celular à 37°C no intervalo de 36 à 40h com meio de cultura RPMI1640 suplementado e plasma VHC positivo contendo 100.000 cópias de RNA viral/mL, genótipo 1, proveniente de pacientes com RT-PCR positivas para o VHC, armazenadas no repositório de amostras do Laboratório de Biologia Molecular do Hemocentro de Botucatu/UNESP. A infecção *in vitro* de plaquetas ($n=4$) foi baseada no protocolo descrito por Padovani et al. (2013), no qual, amostras de sangue periférico de doadores saudáveis foram coletadas e submetidas a dois processos de centrifugação, o primeiro na rotação de 700 G por 3 minutos para obtenção do plasma rico em plaquetas (PRP) e o segundo sob rotação de 1600G por 5 minutos para obtenção das plaquetas. Estas foram lavadas com solução fisiológica 0,9% à 1500G por 5 minutos a fim de retirar o plasma remanescente do doador. Após este procedimento as plaquetas foram incubadas com plasma VHC positivo contendo 100.000 cópias de RNA viral/mL, genótipo 1 e deixadas sob agitação constante à 37°C. A avaliação da infecção *in vitro* tanto de megacariócitos e de plaquetas foi realizada por citometria de fluxo e microscopia confocal. Em ambas as técnicas foram utilizados anticorpos monoclonais para caracterização de megacariócitos (CD61+/CD45+) e plaquetas (CD61+). A presença do VHC, após a infecção, foi avaliada utilizando anti-hepatitis C vírus NS4A conjugado com FITC e quando necessário, utilizou-se o corante 7AAD para marcação nuclear. As marcações para cada técnica foram realizadas seguindo protocolo do Laboratório de Citometria de Fluxo do Hemocentro de Botucatu e do Laboratório de Imunohistoquímica do Departamento de Patologia dos Hospital das Clínicas de Botucatu, respectivamente. Após a análise dos resultados verificou-se a expressão do VHC tanto na superfície quanto no citoplasma de megacariócitos e de plaquetas. A média da expressão viral intracitoplasmática estava aumentada quando comparado a expressão da superfície indicando um aumento de 2,01 vezes em megacariócitos e 2,27 vezes em plaquetas. As imagens da microscopia confocal também revelaram a presença do vírus na superfície e no citoplasma de megacariócitos e plaquetas. Desta forma, nosso estudo demonstrou a presença do vírus da hepatite C, pós-infecção *in vitro*, em megacariócitos e plaquetas provenientes de doadores saudáveis. Baseado em evidências literárias, consideramos que megacariócitos podem ser possíveis sítios de replicação viral, tendo em vista que compartilham de características semelhantes aos hepatócitos, no que se refere aos receptores classicamente envolvidos na entrada

do vírus e outros estudos apontam a presença de fita complementar do RNA viral em megacariócitos. Maiores estudos avaliando está possível capacidade de replicação em MK podem ser úteis, especialmente, devido a possibilidade deste precursor transferir vírus para plaquetas no momento da formação dessas células, liberando-as assim na corrente sanguínea já infectadas. Em suma, nosso estudo apresenta um modelo de infecção de VHC *in vitro* eficaz tanto em megacariócitos como em plaquetas, podendo assim contribuir para estudos futuros relacionados à fisiopatologia da hepatite C.

TRABALHOS SUBMETIDOS

Alteração das papilas gustativas em modelo experimental de cirrose. Qual a correlação com a disgeusia humana?

Sabrina Alves Fernandes. Orientador: Claudio Augusto Marroni.

Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, RS, Brasil.

Introdução: Uma das complicações inerentes da cirrose é a desnutrição proteico-calórica (PCM). A predominância de PCM em pacientes cirróticos, independentemente da etiologia, varia de 20% a 60% em pacientes com cirrose compensada e pode chegar a 100% em candidatos a transplante hepático. Pacientes com cirrose podem apresentar várias deficiências nutricionais, incluindo a deficiência de zinco; o zinco participa na homeostase e na formação de estruturas de proteínas. Devido às suas propriedades anti-inflamatórias, anti-apoptóticas e anti-oxidantes, zinco inibe fibrose relacionada com cirrose, controlando a função de células hepáticas estre-ladas. A deficiência de zinco, pode promover e / ou potencializar a desnutrição, disgeusia, hipoalbuminemia, um desvio portossistêmico e um desequilíbrio na extração de zinco hepático. Dentre as queixas mais comuns dos pacientes cirróticos é a disgeusia, porém ainda pouco documentada. É possível detectar mudanças na estrutura da língua que podem indicar o processo fisiopatológico da disgeusia. Há quatro tipos de células (I, II, III e IV) nas papilas gustativas. Estas células, especialmente tipos II e III, são responsáveis pela transdução do sinal de sabor para o cérebro. Para diferenciar os tipos de sabor (amargo, doce e um a mi), receptores tão também presentes na papila gustativa (exceto para papilas filiformes [FIP]) que permitem a identificação de alterações na percepção do sabor. A família de receptores de sabor T1R hetero-oligomérica composta por três receptores específicos acoplados à proteína G, T1R1, T1R2 e T1R3, que têm padrões de expressão diferentes. Ao estudar esses receptores, alterações potenciais na percepção do paladar pode ser identificado. Até à data, não houve análises morfológicas e / ou histológicas das línguas de pacientes cirróticos. O tetracloreto de carbono (CCl4) é uma droga hepatotóxica que é amplamente utilizada em estudos experimentais da cirrose hepática porque os seus efeitos mimetizam a cirrose humana. Neste estudo, nós hipotetizamos que as alterações morfológicas e / ou histológicas ocorreu nas papilas gustativas de pacientes cirróticos. No entanto, realizar biópsias nas línguas dos pacientes cirróticos e de controle não era viável; portanto, foram analisadas as línguas de ratos cirróticos, que apresentaram estruturas morfológicas e histológicas semelhantes à língua humana. **Objetivos:** Neste estudo, o objetivo foi correlacionar as alterações relacionadas com PCM e deficiências celulares com a alteração da estrutura papilas gustativas em animais com cirrose induzida por CCl4. **Métodos:** Foram avaliados quatorze ratos Wistar machos. Após 16 semanas, o fígado foi removido para diagnosticar histologicamente cirrose, e o sangue foi recolhido para realizar testes de integridade hepática. A língua foi removida para exame histológico e imuno-histoquímica utilizando anticorpos contra o produto do gene da proteína PGP 9.5 e os receptores de sabor doce T1R2 e T1R3. As alterações morfológicas foram determinadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os níveis de zinco no soro foram medidos. **Resultados:** Além da evidência histológica, os animais cirróticos demonstraram alteração significativa na função hepática (AST, ALT e ALP), indicando a presença de danos no fígado. Os níveis de zinco foram menores no grupo CCl4 do que no grupo de controle. Na análise da peroxidação lipídica usando TBARS, observou-se um aumento na peroxidação lipídica em todos os animais com cirrose induzida por CCl4 ($p = 0,05$). A análise histológica inicial da estrutura língua de ratos foi realizada utilizando / coloração com HE, revelando uma redução significativa no FIP nos animais com cirrose comparativamente com os

animais controle. Na análise por MEV mostrou na morfologia da língua uma diminuição gradual da papila gustativa que ocorreu, particularmente no diâmetro da base e da região apical, no grupo CCl4. Em comparação com os animais controle, as papilas gustativas nos animais cirróticos demonstraram alterações morfológicas. A análise imuno-histoquímica da inervação das papilas gustativas, utilizando o anticorpo PGP 9.5 revelaram que os animais controles e CCl4 tinha papilas fungiformes (FUP) e FIP na região dorsal da língua. Foi analisado através de receptores T1R (T1R2 e T1R3) as papilas gustativas dos ratos determinando o potencial de imunorreatividade do receptor para o sabdordoce. T1R2 foi observada em ambos grupos. A imunorreatividade foi positiva para o receptor de T1R3 nos animais controles, mas não nos animais cirróticos. **Conclusões:** O modelo experimental de cirrose por CCl4 mimetiz os parâmetros bioquímicos e histológicos da cirrose humana. No presente estudo, foi possível determinar que os ratos com cirrose apresentam alterações significativas nas papilas gustativas, principalmente relacionadas com sabor doce e salgado.

Análise de associações de polimorfismos HLA, HPA, indicadores de autoimunidade e manifestações reumatológicas na hepatite C

Natália Bronzatto Medolago, Adriana Camargo Ferrasi, Mari Nilce Peres, Rita de Cássia Siqueira Bruder, Adriana Polachini do Valle, Aline Faria Galvani, Rejane Maria Tommasini Grotto, Maria Inês de Moura Campos Pardini, Oswaldo Melo Rocha, Giovanni Faria Silva. Orientador: Giovanni Faria Silva.

Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, São Paulo, Brasil.

Objetivos: Verificar possíveis associações de indicadores de autoimunidade e polimorfismos do HLA e HPA com manifestações reumatológicas e parâmetros clínicos da doença. **Material e métodos:** Estudo transversal com portadores de Hepatite C Crônica, selecionados consecutivamente no Ambulatório de Hepatites Virais da Disciplina de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu. Com intervalo de confiança de 95%, precisão de 7% e proporção de 31% dos infectados com vírus C que apresentam manifestações reumatológicas, o tamanho amostral de 160 indivíduos foi determinado pela fórmula de Fisher e Belle. Foram incluídos participantes com idade entre 18 e 80 anos, com RNA VHC detectável e genotipagem do VHC; sem tratamento prévio para hepatite C (nãives), com biópsia hepática para estadiamento da fibrose ou diagnóstico clínico/imagem de cirrose e que assinaram o TCLE. Foram excluídos voluntários com coinfeção VHB/HIV, insuficiência renal crônica, transplante hepático ou renal, doenças difusas do tecido conjuntivo, inclusive AR, conforme Critério de Classificação da Artrite Reumatóide ACR – EULAR 2010, ou com outras doenças hepáticas como hepatite auto-imune, hemocromatose, doença de Wilson, cirrose biliar primária e colangite esclerosante primária. Foram realizadas avaliações do histórico pessoal e avaliação clínica mediante consulta com o paciente e levantamento dos dados em prontuário, a fim de averiguar os critérios de inclusão e exclusão, bem como coletas de sangue para genotipagem dos HPAs -1 e -3 pela técnica de PCR-SSP, HPA -5 pela técnica de PCR-RFLP, fator reumatóide por aglutinação do látex e anti-ccp por ELISA. Variáveis categóricas foram analisadas por tabelas de frequências absolutas e relativas. Nas contínuas utilizou-se estatística descritiva. Os valores foram apresentados como média e desvio padrão ou mediana (incluindo quartil superior e quartil inferior). Os testes aplicados foram qui-quadrado, teste exato de Fisher e teste-t para amostras independentes. **Resultados preliminares:** Dos 160 avaliados, um foi excluído por inviabilidade da amostra coletada, 88 (55,3%) eram homens e 71 (44,7%) mulheres com média de idade de 49,1 anos. Manifestações reumatológicas não atribuídas à coexistência de outras doenças autoimunes foram observadas em 114 (71,7%) indivíduos, dentre elas artralgia (36%), mialgia (32%), fenômeno de Raynaud (29%), sensações parestésicas (29%), fraqueza muscular (27%), dor lombar (18%), alterações cutâneas (14%), artrite (11%), outras (9%) e nódulo subcutâneo (2%). Constatou-se associação entre frequência alélica e manifestações reumatológicas para o HPA-5 em ambos os sexos. Nas análises individuais para os sexos, o resultado manteve-se para o HPA-5 e sexo masculino. No entanto, para o sexo feminino foram encontradas associações de manifestações reumatológicas com o alelo HPA-3a e genótipos HPA-3a3a e HPA-1a1a, não observadas no sexo masculino. Na casuística deste estudo, 25 (11,3%) pacientes acometidos por manifestações reumatológicas apresentaram pelo menos um alelo

HLA-DRB1 conhecidamente associado à artrite reumatóide. **Conclusão:** De maneira inédita, os resultados preliminares mostraram as possíveis associações entre manifestações reumatológicas, indicadores de autoimunidade, polimorfismos HPA-1, -3 e -5 e HLA-DRB1, que podem predispor seus portadores a complicações no curso da Hepatite C.

Análise dos tratamentos realizados em pacientes portadores de carcinoma hepatocelular acompanhados em um hospital federal do Rio de Janeiro

Cassia Regina Guedes Leal. Orientador: Sérgio Setubal.

Hospital Federal dos Servidores do Estado e Universidade Federal Fluminense (HUAP), Rio de Janeiro, Brasil.

Objetivos: Há poucos estudos sobre a epidemiologia do carcinoma hepatocelular (CHC) e suas diferentes modalidades terapêuticas no Brasil. A falta de informações sobre o CHC no Brasil dificulta a política de saúde voltada à prevenção e ao tratamento de novos casos. O objetivo desse trabalho foi caracterizar, em um único centro no Brasil, o CHC segundo os seus principais aspectos clínicos e epidemiológicos, as diferentes modalidades terapêuticas e os desfechos após o tratamento. **Métodos:** Foram acompanhados 326 pacientes com diagnóstico confirmado de CHC durante um período de cinco anos (janeiro de 2011 a dezembro de 2015). Foram analisados os dados demográficos e as principais características do tumor e da doença hepática de base, bem como o tratamento, a sobrevida e os desfechos. **Resultados:** A idade no momento do diagnóstico foi de 62,88 (\pm 10,2) anos, em média. Eram do sexo masculino 231 pacientes (70,9%). A infecção pelo vírus da hepatite C ou B foi detectada em 215 (66%) e 29 (9%) pacientes, respectivamente. Havia cirrose hepática em 94% dos casos de CHC. Etiologia alcoólica só foi identificada em 29 pacientes (9%). De acordo com a classificação de Barcelona, a maior parte dos pacientes foi classificada como BCLC A no momento do diagnóstico (114 pacientes). A quimioembolização hepática transarterial (TACE) foi empregada como o tratamento de escolha em 173 pacientes (53%). A terapia sistêmica com sorafenibe foi realizada em 131 (40%) indivíduos, o transplante de fígado em 44 (14%), a ressecção do tumor em 26 (8%) e a alcoolização ou ablação por radiofrequência em 15 (5%). Quinze pacientes (5%) receberam apenas cuidados paliativos. A média de sobrevida global foi de 39,6 meses, calculada a partir da data do diagnóstico até a data do óbito ou último contato, sendo a principal causa de óbito a progressão da doença (85,2%). Com relação ao grupo submetido a TACE, a sobrevida global foi de 32,4 meses. Na avaliação da lesão alveolar pelo mRECIST, 16,8% dos pacientes apresentaram resposta completa, 37% resposta parcial, 19,1% doença estável e 13,3% doença progressiva. Com relação ao grupo que usou sorafenibe, a sobrevida global foi de 9,7 meses, sendo 10,5 meses para os pacientes Child-Pugh A (61%) e 8,1 meses para os pacientes Child-Pugh B (39%). Os principais efeitos colaterais foram diarreia (21,4%) e síndrome mão-pé (10,7%). Foi necessária a interrupção do medicamento em 37% dos pacientes, principalmente devido a efeitos colaterais. **Conclusões:** A hepatite C crônica foi a principal causa de doença hepática associada ao CHC. A maior parte dos pacientes chegou ao centro de referência em uma fase precoce da doença. Entre as terapias realizadas, a TACE foi a mais comum (empregada nos pacientes classificados como BCLC B e nos classificados como BCLC A que aguardam transplante hepático, para evitar a progressão). A sobrevida foi maior que a descrita na literatura (32,4 meses x 20 meses). Com relação ao grupo que usou sorafenibe, a sobrevida foi também maior que a descrita pela literatura (10,5 x 9,5 para o Child-Pugh A e 8,1 x 4,6 para o Child-Pugh B), mostrando que o medicamento deve ser recomendado mesmo na doença em estágio avançado. Estudar um único centro com acesso a várias possibilidades terapêuticas trouxe vantagens para o acompanhamento e para a sobrevida dos pacientes. Nossos resultados podem ajudar a definir novas estratégias terapêuticas em outros serviços.

Aplicação sequencial dos exames do PCDT na abordagem de portadores de hepatite C

Flávia Ferreira Fernandes

Hospital Federal de Bonsucesso, Rio de Janeiro, Brasil.

Introdução: O tratamento da hepatite C crônica (HCC) passa por

período de grandes inovações. Novos tratamentos, com eventos adversos reduzidos e elevadas taxas de resposta virológica sustentada, estão disponíveis. No Brasil, a indicação de tratamento pelo PCDT/MS se baseia no estadiamento da HCC através de marcadores sorológicos (APRI e FIB4 - não invasivos e de baixo custo) ou elastografia hepática (EH - não invasiva, menos disponível) ou biópsia hepática (BH - invasiva). **Objetivo:** avaliar modelo de aplicação sequencial de marcadores não invasivos sorológicos (APRI, FIB4), EH e BH, em ordem crescente de complexidade, para indicação do tratamento da HCC conforme PCDT/MS. **Material e métodos:** 234 portadores de HCC submetidos à BH para avaliação de tratamento entre 2011 e 2014 foram incluídos. A EH e os exames laboratoriais para cálculo do APRI e FIB4 foram realizados em intervalo de até 3 meses em relação à BH. A BH foi classificada conforme METAVIR. Como indicação de tratamento foram aplicados, em acordo com o PCDT/MS: APRI > 1,5; FIB4 > 3,25; EH > 9,5 kPa e BH \geq F3. **Resultados:** 33% homens; idade 54 \pm 11 anos. Cada método, ao ser aplicado separadamente, indicaria o seguinte número de tratamentos: APRI 43; FIB4 35; EH 75 e BH 46. Com o uso sequencial dos indicadores (tabela) obtivemos 99 indicações de tratamento. A aplicação inicial de marcadores sorológicos foi suficiente para indicar tratamento em 51% dos casos e reduziu em 22% o número de EH necessárias (234 para 183). Na sequência a utilização da EH foi capaz de indicar 39% dos tratamentos. Restariam 144 pacientes para realizar BH, dentre os quais 45 eram F2 na EH. Após a BH, nenhum paciente F0-1 na EH apresentou indicação de tratamento. Dos 9 pacientes cujo tratamento foi indicado na BH, 1 tinha EH inválida e 8 F2 na EH. Ou seja, cerca de 20% dos pacientes com F2 na EH estavam subestadiados.

Método	Pacientes examinados (n)	Tratamentos acrescentados (n)
APRI > 1,5	234	43
FIB4 > 3,25	191	8
Elastografia > 9,5	183	39
BH \geq F3	144	9

Conclusão: Metade dos tratamentos podem ser indicados com exames sorológicos amplamente acessíveis. Isoladamente a EH é o método que mais indica tratamentos. A aplicação sequencial de indicadores de tratamento permite aumentar o número de pacientes tratados. Uma parcela significativa de pacientes classificados como F2 na EH podem estar subestimados e a BH deve ser considerada neste grupo.

Associação entre o genótipo IL6-174GG e diabetes mellitus tipo 2 em pacientes com hepatite C crônica

Diego A. Vieira, Maria Thereza B. de Almeida, Luciana R. da Cunha, Adriana D. Gomes, César LL. Faria Jr, Rosângela Teixeira, Gifone A. Rocha, Dulciene M. Queiroz, Luciana D. Silva. Orientador: Luciana Diniz Silva.

Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (FMUFMG), MG, Brasil.

Introdução: A hepatite C crônica (HCC) e o diabetes mellitus tipo 2 (DM2) são considerados problemas relevantes de saúde pública mundial. HCC tem sido associada às alterações metabólicas: resistência periférica à insulina e DM2. Ainda, em pacientes com HCC, aumento da frequência de obesidade, do DM2 e da doença gordurosa do fígado não-alcoólica podem acelerar o curso evolutivo da doença hepática. Ambos, HCC e DM2, estão associados à inflamação sistêmica e contribuem para a desregulação do sistema imunológico. Dentre a expressão de citocinas pró-inflamatórias, destaca-se a produção da interleucina-6 (IL-6). No contexto da hepatopatia, causada pelo VHC, concentrações séricas aumentadas de IL-6 estão associadas à gravidade da fibrose hepática, ao surgimento do carcinoma hepatocelular e a maiores taxas de mortalidade de causa hepática. Estudos demonstram que níveis elevados de IL-6 relacionam-se com resistência à insulina e intolerância à glicose. Esses achados indicam um papel potencial dessa citocina no desenvolvimento do DM2. A presença de polimorfismos de nucleotídeo único [em inglês, *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNP)] na região promotora do gene da IL-6 altera a atividade transcricional desse gene e, por sua vez, ocasiona

anormalidades nos níveis séricos dessa citocina. Associação entre o polimorfismo do gene que codifica a IL-6 (IL6-174G/C) e DM2 tem sido descrita. Contudo, no Brasil, essa associação em pacientes com HCC ainda não foi investigada. **Objetivos:** O objetivo principal desse trabalho foi investigar se o polimorfismo do gene que codifica a IL-6 (IL6-174G/C) está associado ao DM2 em pacientes cronicamente infectados pelo vírus da hepatite C. **Métodos:** Pacientes com HCC ($n=149$) foram incluídos de forma consecutiva e prospectiva [média de idade $53,0 \pm 11,2$; 43 diabéticos (28,9%); 106 (71,1%) não diabéticos; 78 mulheres (52,3%); 71 homens (47,7%); 30 HCC com cirrose (20,1%); 119 HCC sem cirrose (79,9%); 34 obesos (22,8%); 115 não obesos (77,2%)]. DM2 foi diagnosticado de acordo com os critérios da "American Diabetes Association - *Diagnosis and classification of diabetes mellitus* (2014)". Hipertensão arterial sistêmica (HAS) foi diagnosticada usando os critérios da "European Society of Hypertension/European Society of Cardiology (ESH/ESC) - *Guidelines for the management of arterial hypertension* (2013)". Obesidade foi definida como $IMC \geq 30\text{kg/m}^2$. O diagnóstico e o estadiamento da doença hepática foram baseados em parâmetros clínicos, bioquímicos, sorológicos, radiológicos e histológicos. Variáveis clínicas, laboratoriais e sociodemográficas foram avaliadas em pacientes com HCC com e sem DM2. Foram coletados (5 ml) de sangue de todos os pacientes e a fração de leucócitos, obtida por centrifugação, foi utilizada para a extração do DNA. Os alelos polimórficos foram genotipados por PCR em tempo real e confirmados por sequenciamento. Os dados foram analisados no *software* SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago IL, EUA). Análises univariadas e multivariadas foram realizadas para avaliar as variáveis que estavam independentemente associadas com DM2. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética da UFMG. **Resultados:** Na análise multivariada, ajustada por sexo, idade e obesidade, o genótipo homozigoto IL6-174GG (RC = 2,5; IC95% = 1,02-6,02; $p = 0,05$), HAS (RC = 6,5; IC95% = 2,62-16,19; $p < 0,001$) e cirrose (RC = 2,6; IC95% = 1,13-6,11; $p = 0,03$) estavam associados ao DM2. O polimorfismo C-IL6-174G estava em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p = 0,16$). **Conclusão:** Os resultados do presente sugerem que o genótipo homozigoto IL6-174GG está associado ao DM2. Ainda, DM associou-se à presença de cirrose hepática reforçando, assim, o seu papel como potencial fator de risco para progressão da fibrose hepática.

Avaliação da função renal em pacientes com hepatite C crônica submetidos à terapia com antivirais de ação direta de segunda geração

Medeiros T, Rosário NF, Lacerda GS, Saraiva GN, Salvatio C, Ribeiro MC, Esberard EB, Andrade TG, Xavier AR, Silva AA, Almeida JR. Orientador: Andrea Alice da Silva.

Universidade Federal Fluminense (UFF), Rio de Janeiro, Brasil.

Objetivo: Avaliar a função renal de pacientes com hepatite C crônica após 12 semanas de terapia com os DAA de segunda geração, em esquemas terapêuticos baseados no sofosbuvir (SOF). **Material e métodos:** O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFF. Trata-se de um estudo longitudinal e prospectivo, onde foram incluídos pacientes adultos de ambos os sexos voluntários, diagnosticados com hepatite C crônica e sob terapia com DAA provenientes do Centro de Referência para Tratamento de Hepatites (HUAP/UFF). Analisamos antes (T0) e após 12 semanas (T12) do início da terapia: creatinina e uréia séricas, proteinúria, albuminúria, caracteres urinários, fração de excreção de sódio e taxa de filtração glomerular baseada nos níveis de creatinina (TFG^{Cr}). O estadiamento de DRC foi feito de acordo com os critérios da KDIGO (2013). Diferenças entre T0 e T12 foram analisadas utilizando o teste t pareado ou teste de Wilcoxon. Frequências foram analisadas com o teste exato de Fisher. Valores de p inferiores a 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. **Resultados:** Foram avaliados 78 pacientes com hepatite C crônica tratados DAA de segunda geração, entre dezembro de 2015 e junho de 2016. A média de idade foi $60 \pm 9,5$ anos e 66,7% eram do sexo feminino. Na nossa amostra, o genótipo 1 foi o mais prevalente (75,6%) e 62,8% dos pacientes foram tratados com SOF em associação com daclatasvir e ribavirina. Todos apresentaram $TFG^{Cr} > 45\text{mL/min/1,73m}^2$. Após 12 semanas de tratamento, observamos melhora da função renal dos pacientes, com diminuição nos níveis séricos de uréia e creatinina e no consequente aumento da TFG^{Cr} ($P < 0,0001$). Os demais parâmetros urinários permaneceram com seus níveis inalterados. Após a terapia com DAA, observamos que a melhora na função renal observada na maioria dos pacientes também resultou em transição nos estágios de DRC, quando 21 pacientes alcançaram o estágio G1, o qual caracteriza normalidade

da função renal ($P=0,0004$). **Conclusão:** Pacientes com hepatite C crônica tratados com regimes baseados em SOF, com função renal normal ou moderadamente alterada, apresentaram melhora da função renal após 12 semanas de tratamento. Nossos resultados sugerem que esse novo esquema terapêutico pode conferir grandes benefícios aos pacientes com doença renal associada ao HCV.

Avaliação do uso de difosfato de cloroquina em associação com prednisona no tratamento da hepatite auto-imune: estudo randomizado

Lydia Teófilo de Moraes Falcão. Orientador: Eduardo Luiz Rachid Cançado.

Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, SP, Brasil.

Introdução: A hepatite auto-imune (HAI) é doença de etiologia multifatorial em que ocorre destruição progressiva do parênquima hepático e elevada morbimortalidade na ausência de tratamento. É mais frequente em mulheres jovens, mas diagnosticada em ambos os sexos e qualquer faixa etária e caracteriza-se pela resposta favorável ao uso de imunossuppressores, sendo azatioprina (AZA) e prednisona (PD) os de primeira linha. Contudo, 10% dos casos são refratário se efeitos adversos ou intolerância ocorrem em até 15%. Em tais situações o uso de drogas alternativas torna-se primordial. Difosfato de cloroquina (CQ) é droga antimalárica, parte do arsenal terapêutico de doenças reumatológicas auto-imunes, com mecanismo anti-inflamatório e imunomodulador. A droga foi estudada em portadores de HAI em estudo piloto, para manutenção da remissão histológica (RH) após suspensão do tratamento, com menor risco de recidiva no grupo CQ em comparação ao controle histórico, sem tratamento (23,5% x 72,2%; $p = 0,031$). **Objetivos:** O objetivo geral do estudo foi avaliar a eficácia de CQ associado à PD no tratamento da HAI, em comparação com a terapia padrão, composta por AZA e PD, com randomização dos grupos. Os objetivos específicos foram comparar as taxas de remissão bioquímica (RB) e RH entre os grupos, estimar a dose média de PD na obtenção da remissão e avaliar a ocorrência de efeitos adversos das drogas empregadas. Ademais, os pacientes retirados do protocolo por falha terapêutica obtiveram seguimento para avaliação de RH com os imunossuppressores a que foram submetidos após saída do estudo. **Material e métodos:** Foram selecionados portadores de HAI acima de 18 anos, com indicação de tratamento, acompanhados no Ambulatório de HAI do HC-FMUSP, entre 2003 e 2012. Foram excluídos os que recusaram participação, portadores de cirrose descompensada e gestantes. Após iniciado, o estudo foi interrompido nos casos de gestação, desejo do paciente, diagnóstico de retinopatia ou outro efeito colateral significativo, ausência de RB após seis meses ou deterioração clínica. Realizou-se randomização aleatória, ao longo de nove anos, com sorteio para alocação em um dos grupos: controle, composto por AZA e PD, e grupo de estudo, composto por CQ e PD. As medicações foram dispensadas pela farmácia do HC-FMUSP, sendo utilizada CQ ao invés de hidroxiquina (HCQ) pela disponibilidade apenas da primeira no início do estudo. APD foi iniciada na dose de 30mg/dia com redução progressiva até 5-15mg/dia, CQ 250mg/dia, AZA iniciada na dose de 50mg/dia e ajustada conforme exames até 2mg/Kg/dia. As consultas foram mensais com coleta de exames, avaliação da aderência, presença de sintomas e efeitos adversos. Avaliação oftalmológica foi semestral para usuários de CQ. Resposta completa ao tratamento caracterizou-se por RB e RH, a qual foi avaliada por biópsia após 18 meses de RB, definida por inatividade inflamatória no tecido hepático. Nos casos de interrupção do estudo, os pacientes do grupo CQ receberam tratamento convencional (AZA e PD) ou apenas tiveram associação da AZA sem suspensão de CQ. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HC-FMUSP, com assinatura dos participantes do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). As variáveis quantitativas foram expressas por média \pm desvio padrão e as qualitativas, por percentual. Os grupos foram comparados pelo teste de Fisher e pelo de Mann-Whitney. Resultados foram considerados estatisticamente significativos para valores de $p < 0,05$. **Resultados:** Houve randomização de 57 participantes: 31 no grupo AZA e PD e 26 no CQ e PD. As características clínico-laboratoriais dos pacientes ao início do protocolo não diferiram estatisticamente entre os grupos, com predomínio do sexo feminino em ambos (77,4% e 88,5%), idade de $37,2 \pm 17,63$ e $37,54 \pm 15,99$, maior taxa de cirróticos no grupo CQ e PD (44% x 66,7%, $p=0,149$), predomínio de HAI tipo 1 em ambos (77,4% e 80,7%), sendo a maioria virgem de tratamento nos dois grupos (58% e 53,8%). Foram retirados do protocolo seis pacientes do grupo AZA

e PD (três por gestação, dois por efeito adverso e um por perda do seguimento) e 16 pacientes do grupo CQ e PD (quatro por efeito adverso, seis por ausência de RB, dois por gestação, um por má adesão, um por infecção e dois por deterioração clínica). Em análise *intention-to-treat*, não houve diferença estatística na taxa de RB entre os grupos (67% x 53,8%, $p=0,413$) e de RH (34% x 28,5%, $p=0,34$). Em relação à dose de PD na obtenção de RB e RH, não houve diferença significativa entre grupos ($p=0,184$ e $0,254$, respectivamente). Na RB, a dose média foi 13,89 mg (IC 95% 6,76-17,87) no grupo AZA e PD e 10,25 mg (IC 95% 9,38-11) no grupo CQ e PD. Na RH, a dose média foi 10,67 mg (IC 95% 9,62-11,73) no grupo AZA e PD e 11,67 mg (IC 95% 9,83-13,17) no grupo CQ e PD. Durante o estudo, os participantes retirados do protocolo foram submetidos à troca ou adição de imunossuppressores. No grupo AZA e PD, os cinco retirados não apresentaram RH durante o seguimento. No grupo CQ e PD, dentre os 16 retirados, quatro obtiveram RH com AZA e PD e quatro com a associação de AZA, CQ e PD. Nesses casos, a dose de PD variou entre 7,5-12,5mg e de AZA entre 75-125mg/dia, mantendo-se dose fixa de 250mg de CQ. Em relação aos efeitos adversos, houve maior taxa no grupo CQ e PD (42% x 6,4%, $p=0,002$). Entretanto, apenas quatro pacientes foram retirados do estudo por esse motivo. Os efeitos colaterais com PD foram: cefaléia, diabetes, psicose, hipertensão de difícil controle; com azatioprina: intolerância gástrica e dermatológico; com CQ: neuropatia, dermatológicos, oftalmológicos, com suspensão de quatro pacientes por depósito da droga na mácula retiniana, diagnosticado precocemente. **Conclusões:** Não houve diferença significativa nas taxas de RB e RH entre os grupos AZA e PD e CQ e PD, bem como da dose de PD para obtenção das mesmas. Houve RH da HAI com CQ e PD em quatro pacientes e com associação de CQ, PD e AZA em outros quatro, podendo ser um modo de poupar dose de corticosteróide e AZA. Entretanto, estudo comparativo do tratamento padrão com e sem adição de CQ seria necessário para concluir essa hipótese. Houve maior prevalência de efeitos adversos com CQ, que poderia ser minimizada com a disponibilidade de HCQ por menor potencial de toxicidade. Esse foi o primeiro estudo randomizado que comparou o tratamento convencional da HAI com a associação de PD e CQ. O resultado obtido pode incentivar a realização de ensaios controlados, com uso de HCQ, no intuito de avaliar a droga como adjuvante em casos de intolerância ou de falha terapêutica com a terapia padrão.

Avaliação prospectiva da fibrose hepática por elastografia hepática transitória em portadores de hepatite C crônica

Daniela Malta da Silva Pontual. Orientador: Cristiane Alves Villela Nogueira, Renata de Mello Perez e Leticia Cancella Nabuco.

Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (UFRJ), Rio de Janeiro, Brasil.

Objetivo: Avaliar a evolução dos valores da elastografia hepática transitória (EHT) em relação aos estágio de fibrose hepática em portadores de hepatite crônica C. **Métodos:** Foram incluídos pacientes com hepatite C, caracterizada pela presença de HCV-RNA positivo, que realizaram pelo menos dois exames de elastografia hepática transitória (EHT) pelo FibroScan, com intervalo de, pelo menos, 24 meses. Os exames de elastografia foram realizados em jejum, com sonda M ou XL (quando necessário). Foram consideradas válidas exames com 10 medidas válidas, taxa de sucesso > 60% e IQR < 30%. Foi analisada a proporção de pacientes com progressão ou regressão de pelo menos um estágio de fibrose, avaliado pela EHT, após seguimento mínimo de 24 meses. **Resultados:** Até o momento, foram incluídos 168 portadores de hepatite C que realizaram pelo menos dois exames de EHT, 56% mulheres, com média de idade de 56 ± 10 anos. O intervalo médio entre os exames de EHT foi de 34 ± 8 meses. Com relação à evolução das medidas relacionadas à fibrose, 66 (39%) pacientes apresentaram modificação do estágio da EHT em relação à EHT basal, sendo que 30 (18%) progrediram para pelo menos 1 estágio de fibrose e 36 (21%) apresentaram regressão de pelo menos 1 estágio de fibrose. Cento e dois (61%) pacientes permaneceram no mesmo estágio de fibrose. Entre os 30 (18%) pacientes que evoluíram com progressão da fibrose avaliada pela EHT, 28 (93%) apresentaram progressão de um grau de fibrose e 2 (7%) de dois estágios de fibrose. **Conclusão:** Em um intervalo de pelo menos 24 meses, a maioria dos pacientes submetidos à EHT se mantém no mesmo estágio de fibrose. A progressão do estágio de fibrose pelo FibroScan foi observada em apenas 18% dos pacientes e os fatores associados a este desfecho serão avaliados quando a casuística estiver completa.

Características clínicas e epidemiológicas de uma grande coorte de transplantados renais com anti-HCV+ em dois períodos distintos: 1993-2003 e 2004-2014

Emori CT, Uehara SNO, Moreira SR, Carvalho-Filho RJ, Feldner ACCA, Silva ISS, Lanzoni V, Silva AEB, Ferraz MLCG. Orientador: Maria Lucia Gomes Ferraz.

Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo (EPM/UNIFESP), SP, Brasil.

Introdução: A hepatite crônica pelo vírus C (HCV) é a principal causa de doença hepática em transplantados renais (TxR). A prevalência é mais alta quando comparada à da população geral e está relacionada à maior mortalidade e taxas mais elevadas de perda do enxerto. **Objetivos:** Avaliar a prevalência do HCV e características demográficas, epidemiológicas e clínicas de TxR avaliados na última década, comparando-os com igual período anterior. **Casuística e método:** Estudo retrospectivo de pacientes TxR com HCV de um serviço de referência no período de 1993 a 2003 (A) e 2004-2014 (B). As informações foram coletadas de forma padronizada e analisadas pelo teste do qui-quadrado para comparação das variáveis categóricas e os teste *t-Student* e *Mann-Whitney* para as variáveis numéricas. O nível de significância de 0,05 ($\alpha=5\%$) foi adotado. **Resultados:** Foram transplantados 2969 pacientes no período A e 8746 pacientes no período B. A prevalência de anti-HCV+ no período A foi de 7,0% ($n=208$) e no período B foi de 4,9% ($n=427$). Quando ambos os períodos foram comparados entre os portadores de HCV, observou-se que na década mais recente (B) houve maior prevalência do gênero masculino (72,1% x 60,7%, $p=0,02$), idade mais elevada ($46,2 \pm 11,2$ x 39 ± 10 anos, $p<0,001$); menor taxa de transfusão anterior (80,6% x 89,4%, $p=0,05$), maior frequência de TxR anterior (28,2% x 13,7%, $p=0,002$) e maior frequência de doador falecido (DF) (74,2% x 54,9%, $p<0,001$). A coinfeção HCV-HBV esteve menos presente (4,7% x 21,4%, $p<0,001$), mas o tempo em hemodiálise antes do TxR foi semelhante (75,1 x 70,7 meses, $p=0,42$). Quanto às características clínicas houve, no período mais recente, maior frequência de pacientes cirróticos (12,7% x 4,9%, $p=0,012$), porém não houve maior mortalidade por insuficiência hepática (22,2% x 28%, $p=0,56$). A imunossupressão foi realizada com menor indicação de azatioprina (AZA) (58,5% x 34,9%, $p<0,001$) e ciclosporina (CSA) (72,2% x 9,56%, $p<0,001$) e maior frequência de micofenolato-mofetil (MMF) (30,5% x 60,3%, $p<0,001$). **Conclusão:** Pacientes transplantados renais, à semelhança de demais grupos populacionais infectados pelo HCV, tornaram-se mais velhos e passaram a apresentar maior frequência de cirrose. Por outro lado, algumas condições desfavoráveis no que tange à progressão da fibrose, tornaram-se menos frequentes, como a coinfeção com HBV e o uso de azatioprina e ciclosporina. Com o advento das novas drogas esta população passa agora a ter perspectiva segura de tratamento da hepatite C, com altas taxas de cura.

Cintilografia de perfusão hepática na esquistossomose hepatoesplênica

Bernardo Times de Carvalho. Orientador: Edmundo Pessoa de Almeida Lopes.

Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil.

A esquistossomose mansoni é uma doença infecto-parasitária endêmica em 78 países da África, Ásia, Américas Central e do Sul. A forma hepatoesplênica (EHE) constitui a fase evolutiva mais grave da doença, caracterizada pela hipertensão portal. Nela observam-se lesões obstrutivas da veia porta associadas à hipertrofia do território da artéria hepática. A cintilografia de perfusão hepática é um método radioisotópico utilizado na investigação da perfusão do fígado nas doenças hepáticas. Uma vez que a esquistossomose cursa com alterações da fisiologia da perfusão portal secundárias à redução da vascularização portal intra-hepática, pode-se sugerir que ocorram modificações perfusionais semelhantes à cirrose onde está documentado um aumento compensatório da perfusão através da artéria hepática. O presente objetivou verificar alterações da hemodinâmica hepática em esquistossomóticos com a forma hepatoesplênica através da cintilografia de perfusão hepática. Buscou, também, relacionar estas alterações com variáveis clínico-laboratoriais (antecedente de hemorragias, presença de varizes esofágicas e contagem plaquetária) e ultrassonográficas (calibre da veia porta e esplênica, diâmetro longitudinal do baço e padrão de fibrose hepática) encontradas na EHE, no intuito de ampliar o conhecimento sobre esta enfermidade multifatorial e bastante heterogênea, podendo acrescentar novas perspectivas na condução de pacientes com EHE. Dezenove pacientes esquistossomóticos

foram submetidos à avaliação ultrassonográfica do grau de fibrose hepática, medida do baço, veia porta e esplênica, endoscopia digestiva e quantificação de plaquetas. Posteriormente foram submetidos à angiocintilografia com medida do índice de perfusão hepática (IPH). Foi observado que pacientes com esquistossomose hepatoesplênica apresentam significativo aumento do IPH comparado a indivíduos normais ($p=0,0029$) e que este aumento se correlaciona com o comprimento esplênico ($p=0,038$) e calibre das varizes esofágicas ($p=0,0060$). Conclui-se que a angiocintilografia foi capaz demonstrar que pacientes com EHE apresentavam aumento do IPH, caracterizando uma maior "arterialização" hepática, à semelhança do descrito previamente em cirróticos. Observou-se também correlação entre o IPH e o comprimento longitudinal do baço e com o calibre das varizes esofágicas, bem como, com o calibre da veia porta e com a contagem de plaquetas. No presente estudo, a medida do IPH não se correlacionou com o padrão da fibrose hepática, nem com o calibre da veia esplênica ou com o antecedente de hemorragia digestiva. A angiocintilografia representa um campo promissor na avaliação da esquistossomose hepatoesplênica.

Comparação do consumo alimentar de crianças e adolescentes obesos com ou sem doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA)

Patrícia Quadros dos Santos Trigueiro.

Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brasil.

Introdução: Na população infantil e de adolescentes a prevalência da Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA) está entre 3 e 11% e este número pode aumentar para 46% a 80% entre as crianças e adolescentes obesos. A DHGNA é considerada a mais frequente doença do fígado, principalmente pela incidência associada a problemas como diabetes *mellitus* tipo II, obesidade, resistência insulínica e dislipidemia, sendo, assim, considerada a expressão hepática da síndrome metabólica (SM). A alimentação rica em calorias, gordura saturada, açúcar refinado, pobre em fibras e em micronutrientes, bem como a resistência a insulina e a obesidade são fatores de risco para o desenvolvimento da doença. **Objetivo:** Comparar o consumo alimentar de crianças e adolescentes obesos com e sem DHGNA. **Material e métodos:** estudo transversal, realizado no CRIE – Centro de Referência de Imunobiológicos Especiais do HUPES, Universidade Federal da Bahia, Salvador, desde outubro de 2015. A amostra foi de conveniência, composta de 19 pacientes obesos, de ambos os sexos, que tinham entre 8 e 18 anos. Para participar da pesquisa o paciente foi investigado sobre a presença ou não de DHGNA por ultrasonografia (USG) de abdome superior, realizada por um único ultrasonografista e/ou elevação nos níveis das aminotransferases (ALT e/ou AST) com história de ingestão ocasional ou negativa de etanol (<140 g de etanol/semana). Foram excluídos pacientes com outras doenças crônicas do fígado (vírus B e C da hepatite, doença de Wilson, hemocromatose e autoimunes), portadores de hipotireoidismo, em uso de antioxidantes e aqueles que não aceitaram assinar o termo de consentimento livre e esclarecido. Durante o atendimento nutricional foram conhecidos dados como: gênero, idade, diagnósticos clínicos associados, tempo de ganho de peso, prática de atividade física. Para diagnóstico nutricional antropométrico foi calculado índice de massa corporal (IMC), Circunferência da Cintura (CC) (TAYLOR, 2000) e Circunferência do Pescoço (CP) (CALLAWAY et al, 1988) e classificados segundo OMS (2007), IDF (2005) e SILVA et al (2014), respectivamente. O consumo alimentar foi estudado pela análise do registro alimentar de 03 dias, sendo dias diferentes pré-determinados, por terem, comumente, expressões diferenciadas no consumo alimentar. Os registros eram feitos na semana imediatamente anterior à consulta e eram revisados com os pacientes e responsáveis. Foram calculados com o Diet Win V3048 e avaliados segundo as DRI's (2002/2005/2011). Adotamos como nível de significância a probabilidade de erro tipo alfa bicaudal inferior a 5% ($p<0,05$). Para caracterização dos grupos foram utilizados os parâmetros da estatística descritiva adotando-se as medidas usuais de dispersão desvio-padrão e cálculos de frequência. Para a associação entre as variáveis foram utilizados os testes e Teste Exato de Fisher para as frequências das variáveis categóricas dicotômicas e teste T de Student, para as variáveis contínuas com distribuição normal, no "software" SPSS para Windows Versão 20.0. Este projeto foi aprovado previamente pelo Comitê de Ética da Escola de Nutrição da UFBA, sob o número e parecer 1471817. **Resultados:** os resultados são parciais. No total de 19 pacientes foram avaliados até o momento, 10 apresentaram DHGNA e 09 não apresentaram a doença. A comparação dos grupos com e sem DHGNA, viu-se semelhança estatística ($p \geq 0,005$) para as variáveis gênero, idade, escolaridade dos responsáveis, número de moradores na residência, obesidade materna e

paterna, prática de atividade física, presença de acantose *nigricans*, IMC, CC, CP, colesterol total, LDL colesterol, HDL colesterol, TGL e glicemia de jejum. Ao analisarmos dados antropométricos (peso ao nascer, IMC, CC e CP) e compararmos os dois grupos, também não há diferença estatística. No entanto, há correlação da presença da DHGNA com a CC e CP, com $p=0,000$ e $p=0,000$, respectivamente. Quando a adequação ou inadequação do consumo alimentar é comparada com os grupos de pacientes com e sem a DHGNA, vê-se diferença estatisticamente significativa, Tabela 1. **Conclusão:** Na população estudada a DHGNA correlaciona-se com a CC e CP acima dos valores considerados adequados para gênero e idade. Além disso, o consumo elevado ou insuficiente de alguns nutrientes parece se correlacionar de forma positiva com a presença da doença. Conhecendo os hábitos alimentares, controlar a ingestão alimentar desta população pode ajudar na prevenção do surgimento de novos casos da DHGNA na população infantil e de adolescentes atendidos no ambulatório do CRIE.

Tabela 1. Correlação entre a presença da DHGNA e características do consumo alimentar de crianças e adolescentes com e sem a doença, atendidos ambulatorialmente.

	Total n (%)	DHGNA		p valor
		Sim	Não	
Consumo Adequado de Proteína				
Adequado	0	0	0	0,000
Elevado	19 (100)	19	0	
Consumo Adequado de Colesterol				
Adequado	0	0	0	0,000
Elevado	19 (100)	19	0	
Consumo Adequado de Gordura Trans				
Adequado	0	0	0	0,000
Elevado	19 (100)	19	0	
Consumo Adequado de Ácido Linoleico				
Adequado	03 (15,8)	01	02	0,001
Insuficiente	16 (84,2)	09	07	
Consumo Adequado de Ácido Linolênico				
Adequado	06 (31,6)	03	03	0,000
Insuficiente	13 (68,4)	07	06	
Consumo Adequado de Fibras				
Adequado	1 (5,3)	0	01	0,001
Insuficiente	18 (94,7)	10	08	
Consumo Adequado de Vitamina C				
Adequado	12 (63,2)	06	06	0,001
Insuficiente	07 (36,8)	04	03	
Consumo Adequado de Vitamina A				
Adequado	08 (42,1)	02	06	0,000
Insuficiente	11 (57,9)	08	03	

Correlação entre os testes convencionais da coagulação e a tromboelastometria na avaliação da hemostasia do paciente com cirrose hepática descompensada

Fernanda Couto Ferreira. Orientadores: Renata de Mello Perez, Carlos Terra.

Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, Brasil.

Introdução: Na cirrose descompensada a redução funcional hepática determina como consequência redução da síntese dos principais fatores pró-coagulantes (II, VII, IX e X e V), mas também dos principais anti-coagulantes (Proteína C e S e a antitrombina). Vários são os *feedbacks* positivos e negativos entre fatores pró-coagulantes, anticoagulantes, pró-fibrinolíticos e antifibrinolíticos, de maneira que a redução da síntese hepática desses fatores não ocorre de forma proporcional o que torna imprevisível o equilíbrio hemostático do paciente com cirrose. Assim sendo estão suscetíveis tanto a eventos hemorrágicos quanto trombóticos de acordo com os fatores de risco a que estão expostos. Os exames convencionais da coagulação (TAP e PTTa) e a dosagem de plaquetas são utilizados há várias décadas no paciente com cirrose afim de determinar se o mesmo se encontra sob risco de sangramento, entretanto tais testes apresentam inúmeras limitações. Os testes convencionais são realizados em plasma pobre em plaquetas, ignorando a participação da principal célula envolvida no processo hemostático. Além disso, refletem apenas a fase inicial da geração de trombina (cerca de 5% de

sua produção) e também não são capazes de refletir o déficit anticoagulante, dessa forma não sendo aptos em discernir este reequilíbrio hemostático. O tromboelastograma (TEG/ROTEM) é um exame global da coagulação, realizado à beira do leito, com resultados imediatos e elaborado utilizando-se sangue total e, portanto, refletindo a participação celular. Excetuando-se as interações dos fatores de coagulação com o endotélio, todas as demais interações são documentadas como as deficiências de fatores de coagulação e de fibrinogênio, a deficiência plaquetária e a presença de hiperfibrinólise, hipercoagulabilidade e presença de heparina/heparinóides. Destacando-se ainda o fato que as três últimas alterações não são detectadas em testes convencionais. **Objetivo:** Avaliar a correlação entre os testes convencionais da coagulação e a tromboelastometria em pacientes em acompanhamento ambulatorial com cirrose Child B ou C. **Materiais e métodos:** Estudo transversal, com inclusão prospectiva de pacientes, cuja população é de pacientes com cirrose Child-Pugh B ou C, na ausência de descompensação clínica aguda. Foram incluídos pacientes em acompanhamento ambulatorial no Centro Transplantes do Estado do Rio de Janeiro, localizado no Hospital São Francisco de Assis (em colaboração ao Hospital Universitário Pedro Ernesto) e o período de inclusão é de maio/2015 à dezembro/2016. **Resultados preliminares:** Até o momento 69 pacientes foram aprovados para inclusão no estudo, 59% de pacientes do sexo masculino e com média de idade de 57 ± 10 anos. Com relação à etiologia da cirrose, 51% apresentavam hepatite C, 17% hepatopatia alcoólica e 12% doença hepática gordurosa não-alcoólica. Da prevalência das complicações da cirrose no estudo, 83% apresentavam hipertensão portal clinicamente significativa, sendo que destes 36% haviam apresentado hemorragia varicosa prévia, 78% tinham história prévia ou atual de ascite, 62% de encefalopatia hepática, 25% de peritonite bacteriana espontânea e 6% de síndrome heparotrenal prévias. Quanto aos estágios da cirrose, 77% dos pacientes eram Child B e 23% Child C, 68% apresentavam MELD < 15 e 32% MELD \geq 15. A média do escore Child foi de 9 ± 1 e do MELD foi de 14 ± 3 . Dos achados encontrados na tromboelastometria, 82% apresentavam déficit de plaqueta na participação do coágulo, 23% deficiência de fibrinogênio, 26% de deficiência do fator da via extrínseca, 4% apresentavam heparinóides, 4% hiperfibrinólise e 10% apresentavam exame normal (ausência de quaisquer uma das alterações descritas). No que se refere aos testes convencionais da coagulação, 88% apresentavam plaquetopenia (definida como plaqueta sérica < 150.000/mm³), 51% deficiência de fibrinogênio (definida como dosagem de fibrinogênio sérico < 220mg/dL), 9% deficiência de fator da via intrínseca (definido como a relação de PTTa > 1,5), 83% de deficiência de fator da via extrínseca (definida como TAP < 70%) e 1% apresentava exame normal. No que tange a correlação entre os testes convencionais da coagulação e a tromboelastometria, 20% (n=5) dos pacientes com TAP normal nos testes convencionais apresentavam deficiência de fator da via extrínseca à tromboelastometria. Além disso, 25% (n=2) daqueles com contagem de plaquetas normal apresentavam deficiência de plaqueta à tromboelastometria. Similarmente, 70% (n=29) dos pacientes com TAP prolongado não apresentavam deficiência de fator da via extrínseca à tromboelastometria e 10% (n=6) daqueles com plaquetopenia no exame convencional não apresentavam deficiência de plaqueta à tromboelastometria. **Conclusões:** Os achados preliminares deste estudo demonstram que os exames convencionais da coagulação podem apresenta-se normais em pacientes com tromboelastometria com deficiências ou podem apresentar-se alterados com tromboelastometria normal. Dessa forma, podendo falhar tanto em superestimar quanto em subestimar o *status* hemostático do paciente com cirrose e a tromboelastometria fornece informações globais e mais sensíveis nestes pacientes.

Diagnóstico de esquistossomose mansônica em pacientes com hepatite B ou C por metabonômica

Liana Ribeiro Gouveia, Joelma Carvalho Santos, Ronaldo Dionísio Silva, Andrea Dória Batista.
Orientador: Edmundo Pessoa de Almeida Lopes, Ricardo Oliveira Silva.

Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil.

Introdução: A coinfeção entre a esquistossomose e os vírus da hepatite B (HBV) ou C (HCV) é observada frequentemente em países onde a esquistossomose é endêmica, e pode resultar em inflamação hepática crônica¹. O diagnóstico da esquistossomose hepatoesplênica (EHE) em pacientes com infecção pelo HBV ou HCV, ou seja, doença

hepática crônica de etiologia mista (DHM), é realizado rotineiramente através da ultrassonografia de abdômen. O ultrassom é considerado método de diagnóstico de primeira escolha, uma vez que é capaz de identificar características hepatoesplênicas típicas, como fibrose periportal, hipertrofia do lobo esquerdo e atrofia do lobo direito do fígado, esplenomegalia e ascite². No entanto, a análise de aspectos ecográficos do parênquima hepático é um procedimento subjetivo e dependente do examinador³. Como alternativa, a estratégia metabonômica caracteriza-se como estado da arte na utilização da espectroscopia de RMN para fins de diagnóstico clínico. A espectroscopia de ressonância magnética nuclear é uma poderosa ferramenta para identificar mudanças no perfil de metabólitos endógenos como resultado do *status* bioquímico, de forma não invasiva e utilizando uma única amostra.⁴ O objetivo do presente estudo foi construir um modelo metabonômico, a partir de espectros de RMN de ¹H de amostras de soro, capaz de diferenciar pacientes com DHM de pacientes apenas com hepatite B ou C. **Materiais e métodos:** Foram incluídos no estudo 40 indivíduos, sendo 22 no grupo de infecção crônica pelo HBV (n=17) ou HCV (n=5) e 18 no grupo de DHM (HBV+EHE=7 e HCV+EHE=11). Foram coletadas amostras de soro de pacientes com infecção crônica pelo HBV ou HCV (grupo V) e de pacientes com DHM (grupo VE), no período de outubro de 2012 a maio de 2016, no ambulatório de hepatologia do HC-UFPE. Os espectros de RMN de ¹H foram obtidos utilizando o equipamento VARIAN Unity Plus 300, a partir de 400 μ l de soro e 200 μ l de água deuterada. Para avaliação dos espectros, foram realizados tratamentos estatísticos não-supervisionados, como análise por componentes principais (PCA), e supervisionados, como os formalismos PLS-DA e OPLS-DA e análise por discriminantes lineares (LDA). A significância estatística foi determinada pelo método de Validação Cruzada LOOCV (*leave-one-out-cross-validation*). A partir do formalismo LDA, foram obtidos os valores de exatidão, especificidade, sensibilidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo. **Resultados e discussão:** Não há diferença estatisticamente significativa entre os grupos investigados, no que concerne ao sexo (p=0,1159), idade (p=0,0856) e níveis das enzimas hepáticas ALT (p=0,1453) e AST (p=0,1782). O gráfico de escores da OPLS-DA (Figura 1) mostra clara separação entre os grupos, enquanto a matriz de classificação obtida na LDA, após validação cruzada, indica que o modelo metabonômico classificou corretamente 92,5% das amostras, com especificidade igual a 95,4%, sensibilidade igual a 88,9%, VPP igual a 94,1% e VPN igual a 91,3%. **Considerações finais:** O modelo metabonômico construído mostrou-se capaz de diferenciar, de forma objetiva, independentemente do analista, pacientes com DHM de pacientes apenas com hepatite B ou C. Portanto, o estudo piloto, aqui descrito, mostra o potencial da técnica para ser utilizada como alternativa à ultrassonografia no diagnóstico de DHM.

Referências Bibliográficas: 1) Gasim GI et al. Schistosomiasis, hepatitis B and hepatitis C co-infection. *Virology Journal*. 2015;12(19):2-6./ 2) Vitek KS et al. Human schistosomiasis: A diagnostic imaging focused review of a neglected disease. *Radiology of Infectious Diseases*. 2015;2(3):150-7./ 3) Contribution of ultrasonography to the diagnosis of chronic hepatitis C histopathological changes, with emphasis on hepatic steatosis: Part I. *Radiol Bras*. 2011; 44(3):141-6. 4) Lindon J. C. Overview of NMR-based Metabonomics. Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. 2010; 2058-68.

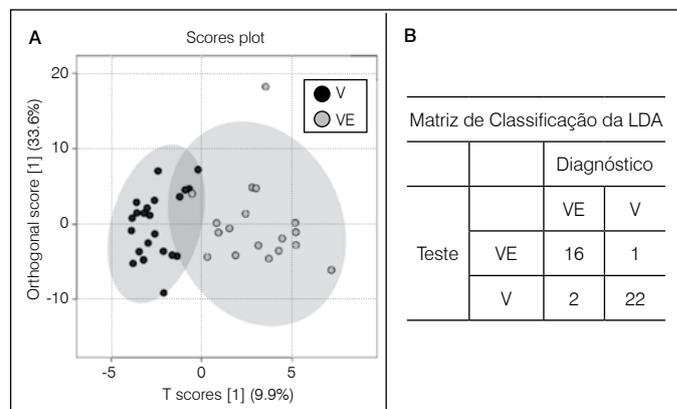


Figura 1. (A) Gráfico de escores da OPLS-DA. Em preto, amostras de portadores de hepatite viral, e, em cinza, portadores de doença mista. (B) Matriz de classificação do modelo metabonômico via LDA.

Diagnóstico molecular de equinococose policística em amostras do trato respiratório inferior

Andrezza Pinheiro Malheiros

Instituto Evandro Chagas (SVS-MS), Pará, Brasil.

Introdução: A equinococose é uma antroponose causada por helmintos do gênero *Echinococcus*. O homem é um hospedeiro acidental do parasita e em 70% dos casos desenvolvem lesões no tecido hepático e nos outros 30% as lesões secundárias podem se desenvolver nos pulmões. Na Amazônia brasileira *E. vogelii* e *E. oligarthrus* são os agentes envolvidos na etiologia da Equinococose Policística. O diagnóstico é complexo, o que muitas vezes leva a sub-notificação da doença. As técnicas imunoenzimáticas para detecção de anticorpos contra o parasita podem auxiliar no diagnóstico, porém não podem ser utilizadas isoladamente para confirmação/exclusão da doença. De forma geral, a confirmação etiológica só é possível por meio da análise das lesões císticas obtidas após procedimentos cirúrgicos no paciente. Uma alternativa para o diagnóstico específico e precoce da doença é a utilização de técnicas moleculares para a detecção do genoma do parasita, através da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) altamente sensíveis e específicas em secreções ou fluidos corpóreos. **Objetivo:** O objetivo desse trabalho foi avaliar a aplicabilidade do diagnóstico molecular em amostras obtidas do trato respiratório inferior de indivíduos com lesões hepáticas e pulmonares suspeitas de Equinococose Policística. **Materiais e métodos:** Foram incluídos neste estudo sete pacientes e analisadas 11 amostras (8 amostras de escarro, 2 de lavado alveolar e 1 de lavado traqueal). A extração de DNA total foi realizada com o kit EZ1 Tissue Mini kit (Qiagen) seguindo dois protocolos: o convencional, seguindo as instruções do fabricante e outro com uma etapa prévia de tratamento das amostras com DTT para fluidificação, seguido da extração convencional. Para avaliar a presença de inibidores da reação nas amostras foi realizada a PCR para detecção de um fragmento do gene codificador da beta-actina. Para avaliar a aplicabilidade do diagnóstico molecular foram comparados dois marcadores genéticos, um nuclear (18S rRNA) e outro mitocondrial (COX-1, subunidade 1 da citocromo oxidase). Também foi realizada a pesquisa de anticorpos anti-IgG para *Echinococcus sp* no soro dos pacientes. Foi realizada também a pesquisa de acúleos rosetales em todas amostras por microscopia óptica com duas lâminas para cada amostra, revisada por dois técnicos. **Resultados:** A sorologia para equinococose apresentou resultado positivo em quatro pacientes e dos três que apresentaram sorologia negativa, em um foi possível detectar o DNA do parasita. Das onze amostras analisadas, três apresentaram positividade para o COX-1 usando o protocolo de extração convencional e quatro com o protocolo modificado após realização de 2º PCR com os mesmos iniciadores. Utilizando o produto da 1º PCR como DNA molde a positividade aumentou para 54,5% e 45,4% com o protocolo convencional e modificado, respectivamente. As reações de PCR com o marcador nuclear apresentaram muitos produtos inespecíficos, com produtos de PCR com tamanhos diferentes do esperado. Foram sequenciados todos os produtos amplificados e após a edição das sequências no Geneious 8.1 foi feita a busca de similaridade das sequências no BLAST. A análise no banco de sequências de DNA evidenciou que todas as amostras positivas na PCR para a região COX-1 foram similares a *E. vogelii* e os produtos inespecíficos amplificados na região 18S rRNA em três amostras identificamos similaridade com *E. vogelii* e nos demais produtos se tratavam de amplificação inespecífica do DNA do hospedeiro (*Homo sapiens*) e de fungos (*Aspergillus sp* e *Candida sp.*). Não foi observado nenhum acúleorostelar em nenhuma das amostras analisadas. **Conclusão:** Conclui-se que é possível fazer o diagnóstico de Equinococose Policística em material obtido de vias respiratórias e o marcador mitocondrial (COX-1) pode ser utilizado para este fim, inclusive detectando outras espécies do gênero *Echinococcus* que ocorrem em outras regiões do país, pois os iniciadores utilizados detectam todas as espécies do gênero. Ressalta-se a importância desses resultados, uma vez que com esta técnica o diagnóstico da doença pode ser obtido de forma precoce e com baixo grau de invasividade, já que de forma geral o diagnóstico é concluído apenas após cirurgia e análise das lesões. Ressalta-se ainda a possibilidade de aplicação desta técnica em outros tipos de amostras obtidas de forma pouco invasiva como: secreção de fístulas cisto-cutâneas, vômito, dentre outros.

Esteatoepatite não alcoólica em obesos graves: consumo de café vs. gravidade da doença

Raffaella Kasprovicz Barros¹. Orientador: Helma Pinchemel Cotrim¹.

1. Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brasil.

Introdução: A obesidade se associa com a Doença Hepática Gordurosa Não-Alcoólica (DHGNA). Um dos principais fatores responsáveis pela maior gravidade do dano tissular hepático na obesidade é a resistência à insulina e a consequente elevação dos níveis intra-hepáticos de ácidos graxos livres e colesterol. Esses fatores induzem a citotoxicidade, a disfunção mitocondrial e ao estresse oxidativo. É sabido que o café contém inúmeros componentes como cafeína, triacilgliceróis, tocoferóis, ácido clorogênico, cafestol e kahweol, e relevantes propriedades antioxidativas e anti-inflamatórias, contribuindo para os efeitos benéficos ao metabolismo. O consumo de café (CC) têm sido associado com a menor progressão da fibrose na hepatite crônica pelo vírus C e na DHGNA, entretanto esse tema continua em discussão, quando essa doença hepática ocorre no obeso grave (IMC > 35kg/m²). **Objetivos:** avaliar a relação entre CC, resistência insulínica (RI) e gravidade histológica da DHGNA em obesos graves. **Pacientes e métodos:** estudo de corte transversal, que incluiu obesos submetidos a cirurgia bariátrica e biópsia hepática com diagnóstico histológico de DHGNA, no período de setembro/2013 a agosto/2014. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Bahia/UFBA. Todos os pacientes responderam a um questionário para quantificar o CC, além de relacionar as seguintes variáveis: gênero, idade, fatores de risco para DHGNA, ingestão alcoólica, e fatores relacionados a outras doenças hepáticas e sistêmicas. Além disso foram submetidos ao exame físico completo, exames laboratoriais, ultrassonográficos e avaliação histológica da espécime de biópsia hepática. Para diagnóstico histológico de DHGNA foram adotados os critérios da NASH Clinical Research Network/2011. Os pacientes foram classificados segundo o CC semanal em 3 grupos: 0 – 239,9mL, 240 – 2099,9mL e ≥ 2100mL. A análise estatística foi realizada pelo SPSS (2008), considerando o CC como variável independente e NAFLD como variável dependente. Utilizamos ANOVA e Kruskal-Wallis na comparação quantitativa das variáveis e de X² Pearson na análise qualitativa. Considerou-se estatisticamente significativo p < 0,05. **Resultados:** incluídos 112 participantes obesos (IMC de 41,9 ± 4,3 kg/m²), com média de idade de 34,7 ± 7,4 anos, sendo 68,6% eram mulheres. Consumo de café foi relatado por 72,3% destes. Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto a presença de síndrome metabólica (SM) (51,6% vs 33,3% vs 39,5%, p = 0,308) nem RI (5,1 vs 4,8 vs 3,8, p = 0,353). Observou-se um percentual progressivamente maior de indivíduos com histologia hepática normal (11,4% vs 16,2% vs 20%, p = 0,660) e menor percentual de NASH (65,7% vs 70,3% vs 57,5%, p = 0,660), dentre os que ingeriam maior volume de café (Tabela 1). A ingestão de café foi positivamente associada com menor gravidade da alteração histológica hepática. Fica evidente através tabela 2 que quanto maior o consumo de café, maior o percentual de indivíduos com fígado normal ou esteatose (37,5% vs 35,5% vs 50%, p = 0,431) e menor o percentual de NASH (62,5% vs 64,5% vs 50%, p = 0,431). **Conclusão:** Os resultados mostram que obesos com história de maior consumo de café apresentavam menor frequência de NASH com e sem fibrose, embora sem significância estatística nesta amostra.

Tabela 1. Resultado da histologia hepática em obesos graves quanto ao consumo de café.

Histologia hepática	Ingestão café semanal			Total (n)
	Primeiro tercil (%)	Segundo tercil (%)	Terceiro tercil (%)	
Normal	11,4	16,2	20	18
Esteatose	22,9	13,5	22,5	22
NASH	65,7	70,3	57,5	72

p = 0,548.

Tabela 2. Resultado da histologia hepática em obesos graves quanto à ingestão de cafeína.

Histologia hepática	Ingestão cafeína semanal			Total (n)
	Primeiro tercil (%)	Segundo tercil (%)	Terceiro tercil (%)	
Normal	13,5	13,2	21,6	18
Esteatose	21,6	13,2	24,3	22
NASH	64,9	73,3	54,1	72

p = 0,480.

Estudo de associação entre polimorfismos dos genes *Mica* e *DEPDC5* e a progressão para doença hepática crônica avançada em portadores do vírus da hepatite C

Camila Guerra Marangon¹. Orientador: Mário Reis Álvares-da-Silva^{2,3}, Daniel Simon¹.

1. Universidade Luterana do Brasil, Canoas, RS.
2. Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS.
3. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

Introdução: O vírus da hepatite C (HCV) infecta aproximadamente 130 milhões de indivíduos e é um sério problema médico, social e econômico. A maioria dos indivíduos infectados é incapaz de eliminar o HCV durante a fase aguda, tornando-se infectado cronicamente. A infecção crônica induz a inflamação hepática e a principal consequência é a progressão para a cirrose, um importante fator de risco para o desenvolvimento do carcinoma hepatocelular (HCC). Devido à relevância dessa infecção viral, estudos têm investigado marcadores genéticos que podem influenciar o curso natural da hepatite C, com destaque para os polimorfismos rs2596542, localizado no gene *MICA*, e rs1012068, localizado no gene *DEPDC5*, que foram associados à suscetibilidade para a doença hepática crônica avançada em indivíduos de origem japonesa. Contudo, o papel destes polimorfismos na progressão para HCC não está totalmente estabelecido, apresentado resultados controversos em diferentes populações. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi verificar se há associação destes polimorfismos com a progressão para o HCC em pacientes cronicamente infectados com o HCV, provenientes da região Sul do Brasil. **Materiais e métodos:** O estudo foi conduzido em indivíduos com cirrose (n=97) e HCC (n=97) decorrentes da hepatite viral e que estavam em acompanhamento médico-ambulatorial no Serviço de Gastroenterologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). O grupo controle foi constituído por indivíduos saudáveis recrutados do banco de sangue do HCPA (n=97). A genotipagem dos polimorfismos foi realizada pela reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real utilizando sondas alelo-específicas (ensaios TaqMan). **Resultados:** Os genótipos dos polimorfismos estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg na população de estudo. A análise do polimorfismo rs2596542 do gene *MICA* mostrou uma frequência significativamente maior do genótipo AA nos indivíduos com HCC (30,9%) do que em pacientes cirróticos (17,5%; OR=2,11; IC 95%: 1,02-4,44; p=0,029). Entretanto, não foi observada diferença significativa na frequência dos genótipos dos polimorfismos entre os indivíduos com HCC e controles saudáveis (p=0,069). A análise dos dados clínicos dos pacientes com HCC com relação aos genótipos do polimorfismo do gene *MICA* não mostrou resultados significativos. Para o polimorfismo rs1012068 do gene *DEPDC5*, não foi constatada diferença significativa dos genótipos do polimorfismo entre os indivíduos com HCC e cirróticos (p=0,322) e indivíduos com HCC e controles (p=0,817). De modo suplementar, não foi verificada diferença significativa entre os genótipos do rs1012068 e os dados clínicos dos pacientes diagnosticados com HCC. **Conclusão:** A análise do polimorfismo do gene *MICA* mostrou que os indivíduos infectados cronicamente com hepatite C portadores do genótipo AA têm aproximadamente o dobro de chances de evoluir para o HCC do que indivíduos com os genótipos GA e GG. O gene *MICA* está localizado no cromossomo 6, dentro do complexo principal de histocompatibilidade de classe I e codifica uma proteína de membrana que possui papel importante na resposta imune inata. Nossos resultados reforçam a importância de fatores genéticos associados à resposta imune na progressão para o HCC.

Frequência de polimorfismos e mutações de resistência nos genes *NS3*, *NS5A* e *NS5B* e barreira genética aos antivirais de ação direta em seqüências depositadas no banco de dados europeu de hepatite C

Dimas Alexandre Kliemann Orientador: Cristiane Valle Tovo

Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSIPA), RS, Brasil.

Introdução: A infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) afeta mais de 180 milhões de pessoas em todo o mundo. O HCV tem ampla diversidade genética, existindo no sangue de pessoas infectadas como quasiespécies. A alta taxa de replicação viral, acompanhada da ausência de controle da replicação através de prova ou revisão de leitura pela *NS5B* polimerase resulta na rápida geração de mutações virais. O desenvolvimento de novos

antivirais de ação direta (DAA) resultou em terapias orais sem necessidade do uso de interferon, com três alvos terapêuticos principais: *NS3/4A* protease, *NS5B* polimerase e inibidores do complexo *NS5A*. **Objetivo:** O objetivo deste trabalho foi analisar o impacto da variabilidade genética do HCV na barreira genética para o desenvolvimento de resistência aos DAA e a ocorrência de mutações de resistência nas regiões que codificam as proteínas virais *NS3*, *NS5A* e *NS5B*, com base em seqüências genéticas de HCV depositadas em bancos de dados. **Métodos:** O estudo baseou-se na análise de seqüências de HCV oriundas de pacientes não tratados depositadas no *European Hepatitis C Virus database* (euHCVdb). Foram analisadas todas as seqüências que codificam as proteínas *NS3*, *NS5A* e *NS5B* do HCV genótipos 1a, 1b, 2a, 2b e 3a, depositadas no euHCVdb. Foram excluídas seqüências incompletas, seqüências contendo erros e/ou gaps e seqüências de amostras de pacientes tratados com DAA, resultando, para análise final, em 798 seqüências da região *NS3*, 708 da região *NS5A* e 535 da região *NS5B*. A barreira genética foi quantificada com base no número e no tipo de mutação necessária para gerar resistência, de acordo com um modelo previamente descrito para HIV, HBV, e HCV que propõe um escore de 1 para transições e 2,5 para transversões. **Resultados:** Foram identificadas alterações genéticas nas seqüências de HCV analisadas, as quais apresentam relação com a resistência aos antivirais. Variantes que requerem somente uma transversão nos subtipos 1a e 1b incluem *NS3* F43S, R80K, R155K/G e A156T. A barreira genética à resistência mostra diferenças entre os subgenótipos na posição 155 da região que codifica *NS3*, onde somente uma transição é necessária no subtipo 1a. Na região da *NS5A*, a variante L31M requer ao menos uma transversão em todos genótipos, exceto em 0,28% das seqüências. Para os inibidores da *NS5B*, a barreira genética nas posições que conferem resistência foi praticamente idêntica nos subtipos 1a e 1b. As posições C316Y, Y448H e S556 G/N/R e D requerem somente uma transição em todos genótipos em até 98,8% das seqüências analisadas. Uma única variante na posição 448 pode conferir alguma proteção no subtipo 1a porque requer duas transversões para tornar-se a variante resistente 448H. Com relação à ocorrência de polimorfismos, a variante Q80K na região *NS3* foi a mais prevalente, sendo encontrada em 44,66% do subtipo 1a e em 0,25% do 1b. Outras substituições frequentes observadas em mais do que 2% na região *NS3* foram I170V (3,21%) no subtipo 1a; Y56F (15,93%), V132I (23,28%) e I170V (65,20%) no 1b. Para *NS5A*, as seguintes alterações que conferem resistência foram encontradas: P58S em 2,21% das seqüências do subtipo 1a; R30Q em 5,95% do subtipo 1b; Q30R em 15,79% das seqüências do subtipo 2a; L31M em 23,08% das seqüências do subtipo 2b, e M31L em 23,08% das seqüências do subtipo 3a. Para *NS5B*, a variante de resistência V321L foi identificada em 0,60% e em 0,32% das seqüências dos subtipos 1a e 1b, respectivamente. **Conclusão:** Mesmo com uma baixa frequência global de mutações observadas nos dados apresentados, esta população resistente é altamente provável de ser selecionada em pacientes que sejam submetidos a tratamento com DAA. As variantes do HCV resistentes a uma das classes de DAA permanecem suscetíveis às outras classes, mas a terapia combinada pode falhar, devido à seleção de cepas de HCV com substituição de resistência, especialmente porque a análise de barreira genética revelou que em 14 de 16 posições a conversão para uma variante resistente requer somente a substituição de um nucleosídeo.

HBsAg e anti-HBs presentes simultaneamente em uma população específica de portadores do vírus da hepatite B

Ingrid de Campos Albuquerque. Orientador: Adalgisa de Sousa Paiva Ferreira.

Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brasil.

Objetivo: Identificar indivíduos com coexistência de HBsAg e anti-HBs entre portadores do HBsAg. **Métodos:** Foram analisados 3984 amostras de sangue de indivíduos de cinco municípios do Maranhão (Humberto de Campos, Axixá, Morros, Icatu e Urbano Santos), Nordeste do Brasil entre Março de 2012 a Dezembro de 2014, de um estudo transversal realizado para identificar a prevalência de marcadores sorológicos de hepatite B, C e vírus Delta. A amostra constituiu-se dos indivíduos que apresentaram positividade para HBsAg e anti-HBs através do teste *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) e tinham HBV-DNA quantificado por PCR em tempo real, e foram submetidas também à realização do anti-HBc, anti-HBe e HBeAg utilizando mesma metodologia dos demais marcadores. Foram pesquisadas mutações no determinante a(aa 124 a 147)

inserido na *Major Hydrophilic Region* (MRH) (aa 100 a 169) do gene S do HBV. Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa e o consentimento foi obtido de todos os indivíduos que concordaram em participar do estudo. **Resultados:** Entre 3984 indivíduos avaliados no estudo, 92 (2,3%) eram portadores do HBsAg. Dentre estes, três tinham o perfil anômalo HBsAg e anti-HBs positivos (3,26%), dois eram do sexo masculino, com idade variando de 30 a 62 anos, não afirmaram imunização por vacina, negligenciavam o uso de preservativo e dois afirmaram compartilhamento de perfuro cortantes. A sorologia para anti-HBc e HBeAg foram positiva e negativa para os três portadores do HBsAg, respectivamente e dois apresentaram anti-HBe positivo. Todos foram identificados como subgenótipo D4. Apenas um indivíduo apresentou duas mutações do gene S, dentro do determinante a (Y134N/T140I). **Conclusão:** A frequência da coexistência do HBsAg e anti-HBs foi semelhante aos estudos anteriores. Apenas um indivíduo apresentou mutação no gene S de um determinante associado a este perfil. Pouco se sabe sobre este fenômeno, no entanto estudos como o nosso pode contribuir para elucidação desta importante questão.

Hiperferritinemia é também marcador de esteatose na doença hepática gordurosa não alcoólica

Alessandro de Moura Almeida. Orientador: Helma Pinchemel Cotrim.

Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brasil.

Introdução e objetivo: Nas doenças do fígado a hiperferritinemia pode significar sobrecarga hepática de ferro, mas também pode ser um marcador de inflamação e gravidade dessas doenças. Na doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) o significado das alterações da ferritina vem sendo discutida e esse estudo teve como objetivo verificar a associação entre a elevação de ferritina sérica e a esteatose na DHGNA. **Pacientes e métodos:** estudo de corte transversal que avaliou obesos graves submetidos à cirurgia bariátrica entre setembro de 2014 a maio de 2015. Todos os pacientes tinham idade igual ou superior a 18 anos e possuíam índice de massa corpórea igual ou superior a 40 kg/m² (ou igual ou superior a 35 kg/m², se associada a comorbidades – hipertensão, diabetes, dislipidemia). Todos realizaram dosagem de ferritina sérica antes da cirurgia. Hiperferritinemia foi definida como ferritina superior a 250ng/ml para mulheres e superior a 300ng/ml para homens. Os pacientes foram submetidos à biópsia hepática durante a realização da cirurgia bariátrica e a análise histológica foi realizada por um único patologista, que utilizou a classificação de Brunt E et al/ 2011 para diagnóstico. A graduação de esteatose (tanto macrovacuolar quanto microvacuolar) foi realizada de acordo com o número de hepatócitos acometidos (grau 0: esteatose em menos que 5% dos hepatócitos; grau 1: esteatose em 5-25% dos hepatócitos; grau 2: esteatose em 25-50% dos

Tabela 1. Associação de hiperferritinemia e graus de esteatose macrovacuolar entre pacientes obesos graves.

	Graus de esteatose macrovacuolar				
	Grau 0	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
Paciente sem hiperferritinemia	52 (30,2%)	65 (37,8%)	41 (23,8%)	13 (7,6%)	1 (0,6%)
Pacientes com hiperferritinemia	3 (8,1%)	16 (43,2%)	11 (24,9%)	6 (16,2%)	1 (2,7%)

p = 0,036.

Tabela 2. Associação de hiperferritinemia e graus de esteatose microvacuolar entre pacientes obesos graves.

	Graus de esteatose microvacuolar				
	Grau 0	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
Paciente sem hiperferritinemia	142 (83,0%)	25 (14,6%)	4 (2,4%)	0 (0%)	0 (0%)
Pacientes com hiperferritinemia	17 (45,9%)	15 (40,5%)	4 (10,8%)	1 (2,8%)	0 (0%)

p < 0,001.

hepatócitos; grau 3: esteatose em 50-75% dos hepatócitos; grau 4: esteatose em mais que 75% dos hepatócitos). Para a comparação entre as variáveis foram utilizados os testes Qui-Quadrado e Teste Exato de Fisher para as frequências das variáveis categóricas. O erro do tipo I foi estimado em 5%. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FMB – UFBA. **Resultados:** Foram estudados 209 pacientes obesos com idade média de 36,8 ± 10,4 anos, sendo a maioria (67,0%, n = 140) do sexo feminino. A prevalência de DHGNA na amostra estudada foi de 72,7% (n = 152), sendo que 28 (13,4%) pacientes tinham apenas esteatose, 124 (59,3%) tinham esteatoepatite (NASH) e desses 110 (52,6%) NASH com fibrose. Hiperferritinemia estava presente em 17,7% dos pacientes (n = 37). Na população de pacientes com hiperferritinemia, a DHGNA estava presente em 89,2% (n = 33); prevalência inferior de DHGNA foi encontrada entre pacientes sem hiperferritinemia (69,2%, n = 119); p = 0,014. Entre os pacientes com hiperferritinemia observou-se graus mais elevados (2 e 3 de esteatose) esteatose (tanto macrovacuolar quanto microvacuolar) – Tabelas 1 e 2. **Conclusões:** A hiperferritinemia foi um significante marcador de graus avançados de esteatose (macrovacuolar e microvacuolar) nessa amostra de pacientes obesos graves. Os dados sugerem que alterações de ferritina sérica podem ser um marcador de gravidade da esteatose e potencial fator de risco para progressão dessa doença nesses pacientes.

Metaplasia mielóide hepática na hepatite C crônica

Aline Márcia Marques Braz Rosso, Maria Aparecida Custódio Domingues, Giovanni Faria Silva, Caroline Mitiká Watanabe, Paulo Eduardo de Abreu Machado. Orientador: Márcorie de Assis Golim.

Universidade Estadual Paulista (Unesp-Botucatu), Botucatu, São Paulo, Brasil.

Cerca de 3% da população mundial é portadora do vírus da hepatite C (VHC), e 80% evolui para fase crônica, podendo desenvolver cirrose e/ou hepatocarcinoma. Do terceiro ao quinto mês de vida fetal, o fígado é o principal local de hematopoese, perdurando até o primeiro dia de vida extra-uterina. Megacariócitos são células diferenciadas, originadas de células-tronco hematopoéticas, que originam plaquetas. Estas produzem grânulos (alfa/beta) que possuem fatores de crescimento que atuam na cicatrização levando à formação de neoangiogênese. Com o objetivo de investigar a existência de metaplasia mielóide hepática em pacientes VHC+, genótipo 1, foram selecionadas 56 biópsias, as quais foram subdivididas em quatro grupos segundo a classificação METAVIR (F1, F2, F3 e F4), e submetidas a estudo imunohistoquímico utilizando-se método Avidina-Biotina-Peroxidase, com anticorpos primários: anti-Fator VIII; anti-CD34 e anti-CD61. A quantificação de PDGF plasmático foi realizada por ELISA. Em estudo observacional-descritivo de cada caso, 18% dos pacientes apresentaram fenótipo CD34⁺/CD61⁺ em células com aspecto morfológico imaturo no infiltrado inflamatório periportal. Já o fenótipo CD34⁺/Fator VIII⁺ foi observado em 35% dos pacientes, combinando com o aspecto morfológico, semelhante à megacariócitos. Ao fazer estudo comparativo dos pacientes mediante presença ou ausência de metaplasia mielóide hepática, observou-se expressiva redução dos níveis de PDGF nos pacientes com metaplasia. Tais resultados indicam que o VHC pode induzir metaplasia mielóide hepática com acúmulo intra-hepático de plaquetas e seus subprodutos, podendo este mecanismo ter relação com a alta incidência de plaquetopenia nos pacientes VHC e estar potencializando o avanço da fibrose hepática. **Suporte financeiro:** UNESCO/UNODC, Programa de DST- AIDS – Ministério da Saúde e Escritório das Nações Unidas.

Otimização da positividade na cultura do líquido ascítico após centrifugação de 50 ml da amostra, seguida de sementeira em fraco de cultura

Yamashiro FS, Romeiro FG, Silva G.F, Moreira A, Baima J.P, Lima T.B, Oliveira C.V. Caramori A.C. Orientador: Giovanni Faria e Silva.

Universidade Estadual Paulista (UNESP).

Introdução: As peritonites bacterianas espontâneas (PBE) são complicações infecciosas frequentes em pacientes com cirrose hepática e ascite. O diagnóstico é feito pela coleta de líquido ascítico e contagem de polimorfo nucleares (PMN). Valores acima de 250 PMN/mm³ são suficientes para o início do tratamento empírico com antibióticos. As PBE geralmente são

causadas por enterobactérias Gram-negativas, entretanto atualmente observamos mudanças no perfil dos patógenos, com aumento de bactérias Gram-positivas e surgimento de cepas multi-resistentes. A sensibilidade da cultura do líquido ascítico semeado em frascos de cultura à beira do leito encontra-se em torno de apenas 20 a 40 %. **Objetivos:** O objetivo principal foi avaliar a positividade de culturas de líquido ascítico utilizando volume maior (50ml) com centrifugação e semeadura do líquido em laboratório. **Casística:** O estudo observacional de 51 casos de PBE em adultos comparando resultados obtidos pelas análises da quantidade de PMN no líquido ascítico, da PCR sérica, das culturas à beira do leito e das culturas obtidas após centrifugação. **Resultados:** Na amostra 90% dos casos foram do sexo masculino, sendo a principal etiologia da cirrose o uso abusivo de álcool (55%). O valor médio da PCR no diagnóstico foi 10,5 +/- 8,23. A positividade da cultura à beira do leito foi de 31%, porém utilizando a centrifugação essa taxa aumentou para 69%. Observamos no nosso estudo casos de resistência a antibióticos, *Echerichia coli* resistente a Sulfametoxazol-trimetropima e Levofloxacina utilizados para profilaxia primária e secundária ao quadro de PBE ou mesmo no tratamento da mesma. **Conclusão:** O método de coleta associado a centrifugação mostrou-se superior à inoculação direta do líquido ascítico à beira do leito

Perfil das mutações de resistência do vírus da hepatite B aos análogos de nucleos(t)ídeos entre pacientes com hepatite B crônica

Maria Isabel Magalhães Andrade dos Santos. Orientador: Luciano Kalabric Silva.

Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, (Fiocruz), Salvador, BA, Brasil.

Introdução: A doença causada pelo vírus da hepatite B (HBV) é um problema de saúde pública mundial. No Brasil, o sistema único de saúde (SUS) tem disponibilizado drogas antivirais para o tratamento de hepatite B crônica há mais de 10 anos, mas um sistema para o monitoramento e avaliação de resistência a estas drogas ainda não está disponível. **Objetivo:** Este estudo teve como objetivo determinar o perfil de mutações do HBV associadas com a resistência aos análogos de nucleos(t)ídeos entre 81 pacientes com infecção crônica pelo HBV: virgens de tratamento para hepatite B e tratados com diferentes análogos de nucleosídeos e nucleotídeos, no Hospital Professor Edgar Santos (HUPES-UFBA)-Salvador-BA. **Metodologia:** O estudo é do tipo corte transversal e possui: um componente descritivo, representado pela avaliação da frequência das mutações de resistência do HBV aos análogos de nucleos(t)ídeos (LAM, ETV, ADV e TDF) entre os pacientes com infecção crônica virgens de tratamento e tratados; e um componente analítico, do tipo caso-controle, representado pela análise de associação entre tratamento, parâmetros bioquímicos e virológicos e o risco no desenvolvimento de mutações de resistência do HBV aos análogos de nucleos(t)ídeos. O presente trabalho utilizou dois questionários como ferramenta para coleta de dados: questionário de identificação (RESVHB-id) e questionário de revisão de prontuário (RESVHB-rp). Sexo e idade, além de dados clínicos, tais como, resultados de exames (dosagem da carga viral, aminotransferase, biópsia hepática), histórico de tratamento, co-infecção (HCV e HIV) foram registrados. Estes questionários foram aplicados em um estudo piloto com 20 pacientes atendidos no HUPES-UFBA para sua validação e só posteriormente utilizado como ferramenta do estudo. Os dados provenientes das entrevistas e revisões dos prontuários foram cadastrados num banco de dados protegido por senha disponível na FIOCRUZ e acessível apenas pelos membros da pesquisa (REDCap, Vanderbilt University, EUA). A coleta da amostra de sangue, foi feita em tubo a vácuo não aditivado de 10 mL através de punção venosa por um profissional de saúde capacitado. As amostras foram processadas dentro de 2H da coleta para separação do soro, posteriormente alíquotado e congelado em freezer -80°C até o uso, para prevenir a degradação do DNA viral. A carga viral do HBV foi realizada no LACEN-BA através do sistema automatizado Cobas® TaqMan (Roche,USA). O HBV-DNA foi isolado de amostras de soro, amplificado por nested-PCR, utilizando-se primers deduzidos da região flaqueadora da domínio rt do gene P e sequenciados (ABI Prism 3730, Applied Biosystems, EUA). Duas a seis sequências de cada isolado foram alinhadas e os sítios conflitantes foram resolvidos usando o *software* CLC Main Workbench v. 5.0 por inspeção visual dos eletroferogramas. As sequências consenso tinham um tamanho de 1032 pb (compreendendo os aminoácido 1-344 da rt). Estas sequências foram submetidas ao banco de dados HBVrt DB (Stanford

University, EUA) para a análise de cada mutação de acordo com o genótipo e tratamento. **Resultado:** Na população estudada observamos uma maior frequência de homens e pacientes AgHBe negativo 25%, contudo entre os pacientes tratados a porcentagem para AgHBe positivo foi mais elevada com 71%. O genótipo A1 foi o mais prevalente (85,2%) seguido pelo genótipo A2 (4,9%) F (6,2%) e C1, D2 e D4 (1,2% cada). Seis pacientes (7 %) apresentaram mutações de resistência para LAM, ETV, TDF: dois com o padrão L180M + M204V e quatro com padrões diversos (L80I + L180M + M204I ;L80V + L180M + M204V; M204I; A194T). Todas estas mutações foram associadas ao genótipo A (quatro A1 e dois A2). Além disso, foi encontrado um paciente com HBV genótipo C típico do leste da Ásia. Destes pacientes com mutações de resistência, dois foram virgens de tratamento e quatro tinham histórico de tratamento para HIV ou HBV. Foram detectadas quatro mutações no gene S (três casos com a mutação sI195M e um a mutação sW196L) associadas às mutações do domínio rt do gene P, correspondendo à uma taxa de 6% de mutações de escape vacinal. A prevalência das mutações de resistência às drogas antivirais variou de acordo com a duração do tratamento e com o nível da barreira genética da droga utilizada. Neste estudo foi possível observar uma forte associação dos fatores: histórico de tratamento para HBV e/ou HIV, status AgHBe positivo pré-tratamento e co-infecção com HIV com o desenvolvimento de mutação de resistência ($p=0,01$, $p=0,01$ e $p < 0,01$ respectivamente). **Conclusão:** Antes da terapia ser iniciada é extremamente importante o monitoramento da carga viral e a identificação destas mutações para suportar decisões clínicas sobre o manejo dos pacientes e prevenir a emergência de vírus multi-resistentes. **Suporte Financeiro** - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) processo: 478322/2012-7.

Pesquisa de coinfeção pelos vírus da hepatite B, C, D e E em portadores do vírus HIV atendidos em unidade de referência em Belém, Pará, Brasil

Vânia P Sarmento¹, Alex JS de Souza¹, André AC das Chagas¹, Pedro EB Freitas¹, Andreza Pinheiro Malheiros¹, Dickson CN de Brito¹, Kemere MV Barbosa¹, Heloisa M. Nunes¹, João Renato R. Pinho², Manoel do C. P. Soares¹.

1. Instituto Evandro Chagas, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, Belém, PA, Brasil.

2. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, Brasil.

Objetivo: Analisar a presença de coinfeção pelos vírus das hepatites B (HBV), C (HCV), D (HDV) e E (HEV) em portadores do HIV atendidos em Unidade de Referência em Belém, Pará, Brasil no período de novembro/2015 a março/2016. **Material e métodos:** Após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, foram coletadas 404 amostras de soro de portadores do HIV e testadas para os marcadores sorológicos HBsAg, anti-HBc total, anti-HCV, anti-HBs e anti-HD. Nas amostras positivas pela sorologia foi realizada pesquisa de HBV DNA e HCV RNA por reação em cadeia pela polimerase em tempo real e genotipagem para o HCV por técnica de sequenciamento. Até o presente momento foram testadas 285 amostras para anti-HEV IgM e anti-HEV IgG por enzimaímmunoensaio. O projeto foi submetido e aprovado no comitê de ética em pesquisa do Instituto Evandro Chagas, sob número de CAAE 48051315.9.0000.0019 e parecer aprovação 1.318.102. **Resultados e discussão:** Dos 404 pacientes, 233 (57,6%) pertenciam ao sexo masculino, a média de idade foi de 42,7 anos variando de 19 a 74 anos. A taxa de exposição ao HBV, medida pela presença de pelo menos um marcador sorológico para o HBV (anti-HBc e/ou HBsAg) foi de 25%. Sete (1,73%) apresentaram positividade para HBsAg, sendo detectado HBV DNA em 6 amostras, um paciente apresentou HBsAg inconclusivo e positividade para HBV DNA. Foram encontrados 191 (47,7%) pacientes suscetíveis ao HBV por não apresentarem resposta vacinal ou contato com o HBV. Sete (1,73%) tiveram positividade para anti-HBc isolado, sendo HBV DNA positivo em uma amostra, caracterizando a presença de hepatite B oculta. Todos os pacientes positivos ou inconclusivos para HBsAg ou pacientes com perfil sorológico de anti-HBc isolado foram testados para a detecção de anticorpos anti-HD e todas as amostras apresentaram-se como negativas. A taxa de exposição ao HCV foi de (0,74%), sendo encontrados 3 pacientes positivos para anti-HCV e HCV RNA, destes 2 pertencentes ao genótipo 1 A e uma amostra correspondendo ao genótipo 3. Até o momento foram testadas 285 amostras para anticorpos anti-HEV IgM e anti-HEV IgG. A taxa de exposição ao VHE foi de (3,85%), sendo encontradas 4 (1,4%)

amostras positivas para anti-HEV IgM, 7 (2,45%) positivas para anti-HEV IgG (tabela 1). Dos pacientes HBsAg positivos apenas 2 sabiam ser portadores do HBV e os 3 pacientes infectados pelo HCV, tinham conhecimento de seu status sorológico. **Conclusão:** Foi detectada a presença de coinfeção por HBV e HCV, um número considerável de suscetíveis ao HBV (47,7%) e a presença da circulação do HEV na população analisada. O diagnóstico laboratorial e a vacinação são de grande importância para o controle e acompanhamento destas coinfeções e os resultados obtidos no estudo podem contribuir para orientar medidas preventivas e ações de vigilância envolvendo a população estudada.

Tabela 1. Prevalência de marcadores de exposição aos vírus das hepatites B, C e E entre portadores do HIV atendidos em Unidade de Referência em Belém, Pará, Brasil no período de novembro de 2015 a março de 2016.

Marcadores de exposição	n (%)
Hepatite B	
HBsAg+ e/ou anti-HBc +	101 (25%)
HBsAg+	7 (1,73%)
anti-HBc + isolado **	7 (1,73%)
anti-HBc + / anti-HBs + *	59 (14,6%)
Hepatite C	
anti-HCV +	3 (0,74%)
Hepatite E	
anti-HEV IgM +	4 (1,40%)
anti-HEV IgG +	7 (2,45%)

Fonte: Pesquisa de campo 2015/2016; *Infecção natural; **Perfil vacinal; n = número de casos; HBsAg+ = portador do VHB; anti-HBc+/ anti-HBs+ = perfil de infecção pregressa pelo VHB; anti-HBs+ isolado = perfil compatível com proteção vacinal.

Prevalência de hepatite Delta em hemodialisados e transplantados renais infectados pelo vírus B

Pierre AMM, Tavares RCF, Moura IMF, Gouvea MSG, Carvente C, Pinho JRR, Ferraz MLG. Orientador: Maria Lúcia Ferraz.

Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), SP, Brasil.

Introdução: O vírus da hepatite Delta (HDV) é um pequeno vírus RNA defectivo que necessita da ajuda do vírus B (HBV) para sua replicação. A transmissão do HDV pode ocorrer simultaneamente com o HBV ou em pessoas que já são portadoras de hepatite B crônica. Ambos os vírus compartilham as mesmas vias de transmissão. O HDV é distribuído globalmente com ampla variação de prevalência de acordo com a região geográfica. Estima-se que 15 milhões de pessoas no mundo sejam infectadas pelo HDV. Comparada à monoinfecção pelo HBV, a coinfeção HDV/HBV é associada à progressão mais acelerada da fibrose hepática, descompensação hepática precoce e aumento do risco de carcinoma hepatocelular. Pacientes com doença renal crônica (DRC) e transplantados renais (TxR) maior prevalência de infecção pelo HBV, quando comparados à população geral. Dados sobre HDV nessa população são muito escassos na literatura. **Objetivos:** Determinar a prevalência da infecção pelo HDV em uma população de pacientes com DRC em hemodiálise e em TxR infectados pelo HBV. **Material e métodos:** Estudo quantitativo e descritivo realizado no período de maio de 2015 a maio de 2016, em que foram avaliados 117 pacientes infectados pelo HBV (DRC=45 e TxR=72). Os pacientes realizaram entrevista médica e em seguida foi coletada amostra de sangue para análise virológica. Os pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido e a pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética local. Todas as amostras de sangue foram testadas para a determinação qualitativa de anticorpos totais anti-HDV pela técnica ELISA (ETI-AB-DELTA-2 Diasorin, Itália). Foi realizada extração do RNA usando QIAamp RNA mini kit viral (Qiagen, Alemanha) de acordo com as instruções do fabricante e o HDV

RNA detectado por amplificação da transcriptase reversa por reação em cadeia da polimerase (PCR). **Resultados:** Dos 117 pacientes analisados, 64% (75/117) eram do gênero masculino e a média de idade foi 48,3±12,1 anos. Dos pacientes submetidos à biópsia hepática, 21% (13/63) apresentavam grau histológico de fibrose avançada (F3 ou F4). Com base na avaliação clínica, ultrassonográfica ou histológica, 26,5% dos pacientes apresentavam cirrose. A positividade do anti-HDV foi 1,7% (2/117). Um paciente era transplantado renal há 5 anos enquanto outro era hemodialisado. Nenhum dos dois pacientes era de zona endêmica para o HDV. O HDV-RNA não foi detectado em nenhum paciente. **Conclusão:** Embora que o nosso estudo tenha demonstrado que a superinfecção HDV e HBV é rara em hemodialisados e transplantados renais, a pesquisa do vírus Delta deve ser sistematicamente realizada pela gravidade que a doença pode causar e a baixa resposta ao tratamento convencional da hepatite B crônica.

Relevância clínica de mensurações derivadas da bioimpedância elétrica (BIA) em pacientes com hepatite C crônica: avaliação do ângulo de fase e da massa muscular esquelética

Tatiana Bering, Co-autores: Kiara GD Diniz, Marta Paula P Coelho, Ana Carolina M de Souza, Luiza F de Melo, Maria Marta S Soares, Adriana M Kakehasi, Maria Isabel TD Correia, Rosângela Teixeira, Gifone A Rocha. Orientador: Luciana Diniz Silva.

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), BH, MG, Brasil.

Introdução e objetivos: Na cirrose hepática, a perda de músculo esquelético tem efeito negativo na sobrevida e na qualidade de vida. A avaliação da massa muscular esquelética (MME) em pacientes com hepatite C crônica (HCC) torna-se relevante; além deste aspecto, a fisiopatologia da perda de músculo esquelético em indivíduos cronicamente infectados pelo VHC é multifatorial e não foi completamente esclarecida. O ângulo de fase (AF), outra mensuração derivada da BIA, tem sido usado para a avaliação do prognóstico de várias doenças crônicas; dentre elas está a hepatite C. Nossos objetivos foram: identificar a frequência de MME baixa e AF reduzido em pacientes com HCC; avaliar a influência de variáveis, demográficas, clínicas, bioquímicas, virológicas, antropométricas e às relacionadas ao estilo de vida, no ângulo de fase (AF), na MME e na força muscular avaliada de forma indireta pelos valores de resistência (R) e reatância (Xc) em pacientes com HCC. **Métodos:** Foram incluídos prospectivamente e de forma consecutiva 148 pacientes com HCC [76 (51,4%) sexo masculino; média idade, 52,5 ± 11,6 anos; 54 com cirrose (36,5%) e 94 (63,5%) sem cirrose]. O grupo controle constituiu-se em 64 indivíduos assintomáticos que foram pareados pela idade, sexo e índice de massa corporal (IMC) aos pacientes com HCC. O diagnóstico e o estadiamento da doença hepática foram baseados em parâmetros clínicos, bioquímicos, sorológicos, radiológicos e histológicos. Todos os indivíduos foram submetidos à avaliação da composição corporal por meio do aparelho de bioimpedância elétrica (BIA) Quantum X (RJL Systems®). Duas equações derivadas da BIA foram usadas como referência para estimativa da MME: equação A (Baumgartner *et al.*, 1998; Janssen *et al.*, 2000; Chienet *et al.*, 2008) e equação B (Kyleet *et al.*, 2001; Kyleet *et al.*, 2003; Kyleet *et al.*, 2005). AF foi obtido pela BIA e classificado em percentis de acordo com a idade e sexo; valores inferiores ao percentil 5 foram considerados reduzidos. A força muscular foi medida de forma indireta pelas medidas de resistência (R) e reatância (Xc) obtidos pela BIA ajustados pela altura em metros quadrados (R/A e Xc/A) ohms/m. A R/A é negativamente relacionada à força muscular e Xc/A é positivamente relacionada à força muscular (Norman *et al.*, 2009). Ainda, peso, altura, perímetro do braço, área muscular do braço e perímetro da cintura foram mensurados em todos os participantes do estudo. A classificação de obesidade foi baseada nos critérios de Baumgartner *et al.*, 1998. Para a avaliação da atividade física, os indivíduos foram submetidos ao questionário IPAQ. Os dados foram analisados no software SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago IL, EUA). Análises univariadas e multivariadas foram realizadas para determinar as variáveis que estavam independentemente associadas com MME diminuída, AF reduzido e força muscular alterada. **Resultados:** MME reduzida, de acordo com as equações A e B, foi identificada em 6 (9,4%) e 3 (4,7%), em 4 (10,0%) e 1 (2,5%) e em 11 (45,8%) e 3 (12,5%) indivíduos assintomáticos, pacientes com HCC sem e com cirrose, respectivamente. AF baixo foi encontrado em sete (10,9%), oito (20,0%) e 13 (54,2%) indivíduos assintomáticos, pacientes com HCC sem e com cirrose, respectivamente ($p < 0,0001$). Na análise multivariada, ajustada pelo sexo e idade, IMC (RC = 0,13; IC 95% = 0,34 – 0,48; $p = 0,002$) e hemoglobina (RC = 0,61;

IC 95% = 0,40 - 0,95; $p = 0,05$) mantiveram-se inversamente associados à MME diminuída de acordo com a equação derivada da BIA (A). Cirrose (RC = 2,63; IC 95% = 1,03 - 6,72; $p = 0,03$) e obesidade (RC = 4,23; IC 95% = 1,15 - 15,61; $p = 0,04$) foram independentemente associadas à MME reduzida de acordo com a equação derivada da BIA (B). Contudo, IMC (RC = 0,03; IC 95% = 0,01 - 0,18; $p = 0,02$) e área muscular do braço (RC = 0,91; IC 95% = 0,84 - 0,98; $p = 0,02$) mantiveram-se inversamente associados à MME diminuída de acordo com a equação derivada da BIA (B). Na análise multivariada, ajustada pelo sexo e idade, AF baixo associou-se à cirrose (RC = 3,35; IC 95% = 1,47 - 7,64; $p = 0,04$), sedentarismo (RC = 2,42; IC 95% = 1,04 - 5,67; $p = 0,04$) e MME reduzida de acordo com as equações derivadas da BIA (A) (RC = 5,20; IC 95% = 1,38 - 19,63; $p = 0,02$) e (B) (RC = 3,58; IC 95% = 1,21 - 10,57; $p = 0,02$). Na análise de regressão linear, sexo masculino ($\beta = -0,36$; $t = -5,31$; IC 95% = 6,65 a 3,04; $p < 0,0001$), idade ($\beta = -0,29$; $t = -4,30$; IC 95% = -0,24 a -0,09; $p < 0,0001$) e cirrose ($\beta = -0,23$; $t = -3,33$; IC 95% = -5,04 a -1,29; $p = 0,001$) permaneceram independente associados à Xc/A. Sexo masculino ($\beta = -0,61$; $t = -9,78$; IC 95% = -58,10 a 87,54; $p < 0,0001$) e hipertensão arterial (HTN) ($\beta = -0,19$; $t = -2,96$; IC 95% = -37,90 a -7,56; $p = 0,004$), na análise de regressão linear, permaneceram independente associados à R/A. **Conclusão:** Neste estudo, cirrose e obesidade foram associadas à MME reduzida. AF baixo associou-se à cirrose, sedentarismo e MME reduzida. Alterações do estado nutricional podem influenciar o curso e o tratamento da HCC, reforçando assim a relevância da avaliação nutricional e o rastreamento rotineiro da MME e do AF nessa população. Vale ressaltar que esses dados derivados da BIA podem ser obtidos de forma simples, não-invasiva, pouco onerosa e segura para os pacientes. Em conjunto, essas características reforçam o uso de mensurações derivadas da BIA na prática clínica rotineira, especialmente com um método complementar para a avaliação adequada do estado nutricional. Considerando-se a hepatite C como uma doença sistêmica, o cuidado integrado (clínico/nutricional/recomendações para a atividade física) deve ser almejado no acompanhamento de indivíduos cronicamente infectados pelo VHC.

Scores de monócitos pró-inflamatórios e subpopulações de linfócitos T circulantes para determinação de grau de fibrose (leve/avançado) em pacientes com hepatite C crônica

Aline Márcia Marques Braz-Rosso^{1,2}, Giovanni Faria Silva¹, Mariana Sartori Magnoni¹, Alexandre Naime Barbosa¹, Michele Janegitz Acorci-Valerio^{1,2}, Liciania Vaz de Arruda Silveira³, Paulo Eduardo de Abreu Machado¹, Márcorie de Assis Golim¹.

1. Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, Botucatu, SP, Brasil.
2. Universidade Paulista, UNIP, Campus Bauru, Bauru, SP, Brasil.
3. Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

O vírus da hepatite C (VHC) é causa de doença hepática crônica afetando cerca de 3% da população mundial, aproximadamente 170 milhões de pessoas. Avaliando pacientes VHC⁺, genótipo 1, *naive*, demonstramos que monócitos pró-inflamatórios e subpopulações de linfócitos T circulantes estão associados com o grau de fibrose hepática (classificação METAVIR). Com o objetivo de estabelecer valores de corte (*scores*) para distinguir graus de fibrose (leve/avançado) através de quantificações celulares em sangue periférico, por citometria de fluxo, foi realizada curva ROC. Ajustando modelo logístico para dados binários (*"proportionaloddsmodel"*) demonstrou-se que as variáveis foram capazes de distinguir entre os graus de lesão hepática leve/moderado (F1+F2) e estágios mais avançados (F3+F4), sendo monócitos pró-inflamatórios ($p=0,0086$) e linfócitos T CD8 absoluto ($p=0,0001$). Na análise de curva ROC o *score* obtido para monócitos pró-inflamatórios foi de 13%, inversamente proporcional à severidade da fibrose, ou seja, até 13% considera-se grau avançado de lesão hepática, e acima de 13% grau leve. O *cut-off* para linfócitos T CD8⁺ foi 475 células/mm³, indicando que valores abaixo deste correspondem à grau avançado de fibrose, com sensibilidade de 0,7 e especificidade de 0,8 para mudança de grau. O limiar para linfócitos T CD3⁺ foi 1448 células/mm³, inversamente proporcional à severidade da fibrose, ou seja, valores inferiores representam estadiamento avançado de lesão hepática (F3/F4), e acima indicam estadiamento leve (F1/F2). Nossos resultados demonstraram a importância das quantificações de linfócitos T (CD3⁺, CD8⁺) e monócitos (CD14⁺/CD16⁺) na predição da fibrose hepática avançada em pacientes com hepatite C crônica, representando significativo avanço em biomarcadores não invasivos, podendo contribuir ao monitoramento da condição hepática dos pacientes com hepatite C crônica. Suporte financeiro: FAPESP - Processo: 2012/14477-0.

Seguimento clínico, laboratorial, virológico e elastográfico de pacientes com HCV crônico contemplados com tratamento triplo da HCV com inibidores de protease no HUCFF -UFRJ

Thayanna Araújo Capitanio. Orientador: Cristiane Alves Villela Nogueira.

Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, Brasil.

Introdução: Desde 2012 o arsenal diagnóstico e terapêutico disponível da Hepatite C crônica tem sofrido enorme revolução médica e farmacológica, não só a nível de avaliação diagnóstica por método não invasivo como a elastografia hepática transitória (EHT- Fibroscan®) foi introduzida para avaliar o estágio de fibrose, bem como esquemas terapêuticos e combinações medicamentosas disponíveis, com diferencial histórico importante no que diz respeito a duração da terapia, de efeitos adversos, de resposta e taxa de cura que os inibidores de protease NS3 de primeira onda (Telaprevir- TVR e Boceprevir - BCP) quando foram associados ao interferon peguilaado e ribavirina (PEG-RBV) tiveram, principalmente no sentido de aumentar a taxa de resposta ao tratamento. Sabe-se que dentro da história natural da doença, primeiramente de manifestação clínica assintomática na maioria dos casos, cerca de 80-85% dos pacientes infectados agudamente pelo HCV evoluem com infecção crônica, sendo uma das complicações graves conhecidas, a cirrose, estágio mais avançado de fibrose hepática. Sendo o grau de fibrose hepática está relacionado com outras diversas complicações como hipertensão portal, varizes esofágicas e de fundo gástrico, hemorragia digestiva alta, hemorroidas internas, encefalopatia hepática, insuficiência hepática, ascite e PBE, assim como com pior prognóstico, pior sobrevida, maior morbidade e mortalidade, é de suma importância sua avaliação e estratificação adequada, visando sempre o melhor manejo terapêutico. O comportamento da fibrose hepática avaliada pela EHT após o tratamento da hepatite C em pacientes com e sem resposta virológica sustentada (RVS) ainda é motivo de ampla discussão na atualidade, não sendo conhecido o comportamento elastográfico avaliados durante e após o tratamento da hepatite C em pacientes com essa resposta virológica sustentada, bem como a evolução dos exames que refletem a função hepática, portanto, este estudo propõe avaliar a evolução clínica, laboratorial, virológica e elastográfica após o tratamento triplo com inibidores de protease NS3 de primeira onda. **Objetivos:** Avaliar, em pacientes submetidos a tratamento triplo (TT) com PEG-RBV e TVR/BCP a evolução dos valores da EHT em pacientes submetidos a tratamento para hepatite C crônica antes e após o término do tratamento e sua relação com RVS. Avaliar a evolução de variáveis laboratoriais relacionadas à inflamação e função hepática e sua relação com RVS. **Metodologia:** Estudo de coorte prospectivo analítico em pacientes com hepatite crônica C com fibrose hepática avançada (\geq F3 METAVIR) e cirrose compensada submetidos a tratamento triplo de 48 com TVR ou BCP no ambulatório do Serviço de Hepatologia do HUCFF. Foram incluídos portadores de hepatite C crônica, com fibrose hepática avançada ou cirrose compensada (escore Child-Pugh \leq 6, classe A), genótipo 1, mono-infectados, virgens ou experimentados, com Hemoglobina (Hb) > 12 mg/dL (em mulheres) e > 13 mg/dL (homens), plaquetas > 100 mil/mm³, neutrófilos > 1200 células/mm³, albumina $> 3,5$ g/dL. Foram registrados variáveis laboratoriais e elastográficas pelo Fibroscan®, nas fases pré e pelo menos seis meses após o término do tratamento e sua relação com a obtenção de RVS. As análises estatísticas foram feitas no programa SPSS 23.0 (Chicago, IL). **Resultados:** Foram submetidos a tratamento 100 pacientes, entre os quais 86 realizaram EHT no pré-tratamento e foram incluídos (54% feminino, 55 ± 11 anos, 59% brancos). Diabetes Mellitus foi diagnosticado em 27% e cirrose hepática clínica em 55% (todos Child A). O peso médio foi de 75 ± 14 kg e o IMC $27,47 \pm 4,71$ kg/m². Em relação ao genótipo 45% eram 1b, 42% 1a e 13% genótipo 1 sem subgenotipagem, à EHT pré-tratamento, 70% eram F4 de METAVIR ($> 12,5$ kPa). A taxa de RVS foi de 46%, inferior a obtida nos estudos de registro (cerca de 75%). 88 pacientes repetiram o fibroscan no pós-tratamento, sendo a evolução da EHT a seguinte: entre os acientes inicialmente categorizados como F4 (total de 42), 25 (59%) permaneceram nesta mesma categoria. No entanto, 9 (21%) evoluíram para uma EHT compatível com F3, 5 (11%) para F2 e 3 (7%) para F1. Houve diferença significativa entre a mediana da EHT pré e pós tratamento ($p=0,002$). Entre os pacientes classificados como F3 no pré-tratamento ($n=22$), 4 (18%) evoluíram para F4, 5 permaneceram como F3 (23%), 6 foram classificados no pós-tratamento como F2 (27%) e 7 (32%) para F0-F1. No grupo com RVS, houve associação entre este desfecho e a normalização da ALT, AST

($p < 0,001$) e diminuição significativa da GGT. Neste grupo houve também ($p = 0,08$) a um aumento significativo na contagem de plaquetas. **Conclusão:** Uma grande proporção de pacientes com hepatite crônica C que foram contemplados com a terapia tripla que alcançam RVS apresentam diminuição nos resultados de EHT e mudança de categoria para estágios de menor fibrose e apresentam significativa melhora dos parâmetros laboratoriais. O significado dos achados da EHT no pós-tratamento ainda necessita ser melhor estudado. Até o presente momento pacientes com fibrose avançada ainda devem ser mantidos sob triagem para carcinoma hepatocelular e complicações da cirrose.

Seguimento de resposta ao tratamento da peritonite bacteriana espontânea utilizando a proteína c reativa com marcador inflamatório associado à infecção

Yamashiro FS, Romeiro FG, Moreira A, Baima JR, Lima TB, Oliveira CV, Caramori AC, Silva GF. Orientador: Giovanni Faria e Silva.

Universidade Estadual Paulista (UNESP), SP, Brasil.

Introdução: As peritonites bacterianas espontâneas (PBE) são complicações infecciosas frequentes em pacientes com cirrose hepática e ascite. O diagnóstico é feito pela coleta de líquido ascítico e contagem de polimorfo nucleares (PMN). Valores acima de 250 PMN/mm³ são suficientes para o início do tratamento empírico com antibióticos. As PBE geralmente são causadas por enterobactérias Gram-negativas, entretanto atualmente observamos mudanças no perfil dos patógenos, com aumento de bactérias Gram-positivas e surgimento de cepas multi-resistentes. A sensibilidade da cultura do líquido ascítico semeado em frascos de cultura à beira do leito encontra-se em torno de apenas 20 a 40%. **Objetivos:** O objetivo foi avaliar a correlação entre os valores de proteína C reativa (PCR) no sangue e PMN no líquido ascítico de pacientes em tratamento de PBE. **Casística:** O estudo observacional de 51 casos de PBE em adultos comparando resultados obtidos pelas análises da quantidade de PMN no líquido ascítico, da PCR sérica, coletados no momento do diagnóstico e 48 h depois. **Resultados:** Houve boa correlação entre os valores de PCR sérica e PMN no líquido ascítico ($R = 0,505$ e $P < 0,001$). Obtivemos uma relação de área sob a curva de 0,9545 com intervalo de confiança de 0,8677-1,041 e $P < 0,001$, sendo o ponto de corte para o delta PCR com correlação a resposta ao tratamento com uma queda de pelo menos 24% do valor do PCR inicial. **Conclusão:** O nível sérico da PCR mostrou boa correlação com os valores de PMN na avaliação de resposta ao tratamento, podendo ser mais uma ferramenta no tratamento da PBE.

Sequenciamento completo do exoma identifica novas mutações associadas com o desenvolvimento de carcinoma hepatocelular (HCC) em pacientes com hepatite C crônica

Rodrigo F Carmo^{1,2}, Dayse Aroucha^{3,4}, Luydson Vaconcelos^{3,5}, Leila Beltrão Pereira^{3,4}, Patrícia Moura⁴, Laurent Argiro⁶, Alain Desseir⁶. Orientador: Maria do Socorro Cavalcanti⁴.

1. Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), Petrolina, Brasil.
2. Rede Nordeste de Biotecnologia, Recife, Brasil.
3. Instituto do Fígado de Pernambuco, Recife, Brasil.
4. Universidade de Pernambuco, Recife, Brasil.
5. Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Recife, Brasil.
6. Aix-Marseille Université, Marseille, France.

Objetivo: O objetivo do presente trabalho foi identificar novas mutações de único nucleotídeo (SNPs) associados com o desenvolvimento de carcinoma hepatocelular (HCC), por meio de sequenciamento completo do exoma, em pacientes com hepatite C crônica. **Materiais e métodos:** Um total de 9 pacientes com HCC e 10 pacientes com cirrose hepática sem HCC e idade avançada, atendidos no serviço de Gastrohepatologia do Hospital Universitário Oswaldo Cruz/Instituto do Fígado de Pernambuco (Recife, PE), foram incluídos no estudo. A média de idade do grupo com HCC foi de 58,3 anos, enquanto o grupo controle com cirrose teve uma média de 68,4 anos. Os pacientes foram incluídos no estudo se apresentassem anti-HCV e HCV-RNA positivo e foram excluídos aqueles com anticorpos reagentes para hepatites A, hepatite B e HIV. As biópsias hepáticas foram classificadas de acordo com a escala METAVIR. O diagnóstico de HCC foi realizado de acordo com os critérios da Sociedade Americana para Estudo de Doenças do Fígado (AASLD). O presente

estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade de Pernambuco sob CAAE 0041.0.106.000-10. O DNA das amostras foi extraído a partir de sangue total utilizando kit comercial. O sequenciamento foi realizado através de sequenciador de nova geração por meio de esferas magnéticas (IonProton System – Thermo Fisher Scientific) e confirmado por sequenciamento Sanger. Todos os procedimentos foram conduzidos de acordo com as instruções do fabricante e os dados gerados foram analisados através do programa VarAFT. **Resultados:** No grupo controle, foram encontradas 116.769 variantes em 18.054 genes. Entre elas, 2.679 nunca foram descritas em banco de dados público (dbSNP). Em relação aos indivíduos com HCC, um total de 111.206 variantes em 17.876 genes foram encontradas, 2.416 nunca descritas no dbSNP. Para lidar com o grande número de dados obtidos, foram selecionadas as variantes homozigotas e heterozigotas presentes nos casos com HCC mas ausentes em pelo menos 90% dos controles e com boa qualidade de alinhamento. Utilizando esta estratégia, foram selecionadas 3 variantes em heterozigose nos genes *PRSS58* e *SOCS5*. **Conclusões:** No presente estudo foram identificadas 3 variantes em 2 genes (*PRSS58* e *SOCS5*), possivelmente associados com o desenvolvimento de HCC. *SOCS5* é capaz de regular o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) e a via JAK, ambos envolvidos no desenvolvimento e tratamento de vários tipos de câncer. O papel do *PRSS58* nunca foi descrito. Sendo assim, outros estudos são necessários para avaliar o papel destas moléculas no desenvolvimento de HCC.

Sequenciamento de nova geração para rastreamento de mutações de resistência aos novos medicamentos utilizados no tratamento da hepatite C

Karine Vieira Gaspareto¹, Roberto Marques Ribeiro¹, Fernanda de Mello Malta¹, Michele Soares Gomes-Gouvêa¹, Nair Hideko Muto¹, Camila Malta Romano¹, Maria Cassia Mendes-Correa¹, Flair José Carrilho¹, Ester Cerdeira Sabino¹, João Renato Rebello Pinho^{1,2}. Orientador: João Renato Rebello Pinho.

1. Universidade de São Paulo-USP, São Paulo, SP, Brasil.
2. Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil.

Introdução: O vírus da Hepatite C (HCV) é conhecido por sua diversidade genética, sendo classificado em sete genótipos e 67 subtipos confirmados. A maioria dos isolados do HCV detectados no mundo pertence ao genótipo 1, correspondendo aproximadamente a 70% das infecções. Como o genótipo 1 não é somente o mais prevalente mas também o mais difícil de tratar com a terapia Interferon alfa-peguilado e Ribavirina (PR), os primeiros agentes antivirais diretos (DAA) foram desenhados para atuar especificamente na protease do HCV genótipo 1. As proteínas NS3-5B formam um complexo associado à membrana que é responsável pela replicação do genoma do HCV, sendo as proteínas NS3-4A, NS5A e NS5B alvos para o desenvolvimento de inibidores. Vários DAAs têm sido aprovados para uso em pacientes cronicamente infectados pelo HCV, incluindo os Inibidores da Protease NS3-4A (Telaprevir, Boceprevir, Simeprevir, Paritaprevir e Grazoprevir), os Inibidores da NS5A (Daclatasvir, Ledipasvir, Ombitasvir e Elbasvir) e os Inibidores da Polimerase (Sofosbuvir e Dasabuvir). **Objetivo:** O presente estudo teve como objetivo identificar mutações que estejam associadas com a resistência aos DAAs em pacientes sem tratamento prévio com esses medicamentos. **Material e métodos:** Aplicar a metodologia de sequenciamento de nova geração (IonTorrent PGM) para sequenciar a região codificadora do genoma do HCV genótipo 1, incluindo os subtipos 1a (n=51) e 1b (n=49). **Resultados:** No subtipo 1a do HCV, foram encontradas mutações de resistência para as regiões NS3-4A, NS5A e NS5B em 10%, 22% e 8% dos pacientes, respectivamente. E as mutações detectadas foram T54S, V55A, Q80K e R155K para a protease NS3-4A, Q30H/R, H58P e Y93C/H/N para a região NS5A e, para a polimerase NS5B, A421V. As frequências das mutações de resistência encontradas nos pacientes para o subtipo 1b foram 12%, 53% e 31% para as regiões da protease NS3-4A, NS5A e NS5B, respectivamente. Sendo as mutações F43I, T54S, Q80H, D168E e M175L detectadas para a região NS3-4A, L28M, R30Q, L31M, Q54H, A92T e Y93H para a região NS5A e, L159F, C316N, A421V, V499A e S556G para a polimerase. Mutações em mais de uma região foram encontradas em apenas um paciente do subtipo 1a: NS3-4A (Q80K) e NS5B (A421V). Dentre os pacientes analisados para o subtipo 1b, 8 pacientes apresentaram múltiplas mutações de resistência envolvendo duas ou três regiões (NS3, NS5A e/ou NS5B). As mutações envolvendo as regiões NS3-4A e NS5A foram F43I+Q54H+A92T e D168E+L28M.

Para as regiões NS3-4A e NS5B foram encontradas as mutações de resistência T54S+L159F e T54S+C316N e, para as regiões NS5A e NS5B foram Y93H+S556G, A92T+Y93H+S556G e Q54H+C316N. Mutações envolvendo as três regiões (NS3-4A, NS5A e NS5B) foram detectadas em um paciente (M175L+Q54H+L159F+C316N). **Conclusão:** Com a introdução da combinação de terapias sem o emprego do IFN, a detecção inicial de variantes de importância clínica pode ter aplicação significativa na redução de falha ao tratamento em decorrência da presença prévia de mutações de resistência viral, de forma a permitir um melhor delineamento e adequação da terapia para o paciente.

Teste de liberação de interferon gama (IGRA) no diagnóstico de tuberculose latente em pacientes portadores de hepatite C

Uehara S, Emori CT, Nunes EJS, Gama RA, Mucare M, Farias JLR, Carvente C, Silva ISS, Feldner ACCA, Carvalho-Filho RJ, Parise ER, Silva AEB, Ferraz MLG. Orientador: Maria Lucia Cardoso Gomes Ferraz.

Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), SP, Brasil.

Introdução: A tuberculose é uma doença considerada prioritária para vigilância e tratamento pela Organização Mundial da Saúde. O Brasil ainda faz parte dos 22 países que concentram 80% dos casos de tuberculose no mundo. A tuberculose latente (LTBI) é definida como um estado persistente de resposta imunológica à estimulação pelos antígenos do *Mycobacterium tuberculosis*, sem evidências de manifestação clínica de tuberculose doença ativa (Tb). A investigação da LTBI pode ser realizada através do teste tuberculínico (TT) e mais recentemente por meio dos testes de liberação de interferon gama (IGRA). Tendo em vista a elevada incidência recém-relatada de casos de Tb entre portadores de hepatite C, submetidos ou não ao tratamento com interferon, assim como entre pacientes cirróticos devido ao vírus da hepatite C (HCV), é razoável considerar que esta deva ser também uma população a ser priorizada para rastreamento de LTBI. **Objetivos:** Investigar a prevalência de tuberculose latente entre candidatos a tratamento de hepatite crônica C através de IGRA e conhecer a copositividade e conegatividade entre TT e IGRA na população de portadores de hepatite C. **Pacientes e métodos:** Este foi um estudo prospectivo conduzido entre dezembro de 2013 e agosto de 2014 no serviço de hepatologia da Escola Paulista de Medicina – Universidade Federal de São Paulo. Foram incluídos indivíduos maiores de 18 anos de idade, que preenchiam os critérios de tratamento para hepatite C, conforme o protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para hepatite viral C e coinfeções de julho de 2011 do Ministério da Saúde do Brasil e que apresentassem positividade para o anti-HCV e HCV-RNA detectável. Foram excluídos portadores de infecção concomitante pelo vírus da hepatite B ou pelo vírus da imunodeficiência humana adquirida, aqueles com história prévia de Tb ou de doença imunológica ou que estivessem em uso de imunobiológicos. Todos os participantes concordaram com os termos do TCLE e o estudo foi aprovado pelo comitê de ética da instituição. Para realização do IGRA utilizou-se o *Quantiferon Gold in tube test* e o teste tuberculínico foi realizado conforme técnica de Mantoux considerando-se reatores os com enduração maior ou igual a 10 mm. Testes estatísticos apropriados foram utilizados para variáveis numéricas e categóricas e a avaliação de concordância entre os resultados de IGRA e de TT foi feita por teste *kappa*. Adotou-se o nível de significância de 0,05 ($\alpha = 5\%$). **Resultados:** O IGRA foi realizado com sucesso em 97 indivíduos, dos quais 94 realizaram concomitantemente o TT. O número de indivíduos do sexo masculino foi discretamente maior 50,5% (49/97), com média de idade de $53,2 \pm 9,5$ anos e média de IMC de $27,3 \pm 3,9$ Kg/m²; a maioria foi de indivíduos da cor branca 46,4% (45/97); apresentavam cicatriz de vacina BCG 45,4% (44/97); 11,3% (11/97) relataram contato prévio com casos familiares de tuberculose. O TT foi reator em 26,8% (26/97) e o IGRA em 34% (33/97) dos indivíduos. Na análise comparativa entre IGRA + e -, que incluiu 93 pacientes (exclusão de quatro IGRA indeterminados), as variáveis que apresentaram diferença foram: história positiva de contato familiar com tuberculose ($p = 0,019$) e o tamanho da enduração do teste tuberculínico com média de $9,1\text{mm} \pm 6,5\text{mm}$ nos IGRA positivos *versus* $2,64\text{mm} \pm 4,1\text{mm}$ nos IGRA negativos respectivamente ($p < 0,001$). O teste de concordância entre TT e IGRA foi realizado em 90 pacientes em que ambos os resultados estavam disponíveis (exclusão de três pacientes que não retornaram para leitura do TT), obtendo-se concordância moderada ($kappa = 0,508$), com copositividade de 20% (18/90) e conegatividade de 58,8% (53/90). **Conclusões:** 1) A prevalência de tuberculose latente avaliada por IGRA entre os portadores de hepatite C foi compatível com

a da OMS (um terço da população mundial, estimada em estudos baseados em TT). 2) As comparações de sensibilidade e especificidade ficam comprometidas pela falta de um padrão-ouro atual, porém deve-se considerar que o TT utiliza antígenos que podem ter reação cruzada com o BCG e outras micobactérias. 3) Fatores tradicionalmente considerados importantes para infecção por tuberculose como drogadição, etilismo e estado nutricional não apresentaram diferença entre os grupos com IGRA positivo e negativo. 4) A conegatividade foi maior que a copositividade entre IGRA e TT neste estudo.

Tratamento da síndrome hepatorenal com terlipressina ou com noradrenalina : revisão sistemática da literatura com metanálise e avaliação econômica completa

Ângelo Zambam de Mattos. Orientador: Ângelo Alves de Mattos.

Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, RS, Brasil.

Introdução: Considerando que os vasoconstritores mais estudados para o tratamento da síndrome hepatorenal são a terlipressina e a noradrenalina e que, enquanto aquela é uma droga mais cara, esta requer interação em unidade de terapia intensiva. **Objetivo:** Comparar a eficácia e os custos das duas estratégias terapêuticas sob as perspectivas do sistema público de saúde brasileiro, de um grande hospital geral e de um grande plano de saúde privado. **Métodos:** A comparação de eficácia foi conduzida através de uma revisão sistemática com metanálise de ensaios clínicos randomizados e controlados, utilizando o modelo de efeitos randômicos, de acordo com o método de Mantel-Haenszel. A heterogeneidade entre os estudos foi avaliada pela estatística I^2 e pelo teste Q de Cochran. A avaliação da qualidade da evidência foi realizada de acordo com as propostas do *GRADE Working Group*. Foi calculado o tamanho ótimo da informação para determinar o tamanho amostral necessário para verificar uma diferença significativa entre os tratamentos com um poder estatístico de 80%. A avaliação econômica foi realizada através de custo-minimização, considerando as três perspectivas propostas. Todos os custos médicos diretos foram considerados. A coleta dos dados relativos aos custos baseou-se em hospitalizações hipotéticas de pacientes cirróticos internados por síndrome hepatorenal, sendo os pacientes tratados com terlipressina internados em leitos de enfermaria e aqueles tratados com noradrenalina, em leitos de unidade de terapia intensiva. Metanálises de braço único de acordo com o modelo de efeitos randômicos foram realizadas para determinar a dose das drogas e a duração dos tratamentos para cada estratégia terapêutica, e uma análise de sensibilidade probabilística (simulações de Monte Carlo de segunda ordem) foi feita para explorar possíveis incertezas. **Resultados:** A estratégia de busca detectou 130 referências. Após sua análise, quatro estudos (154 pacientes) foram incluídos na metanálise. A qualidade da evidência foi considerada moderada. Não houve evidência de diferença significativa entre os tratamentos com terlipressina ou noradrenalina quanto à sobrevida em 30 dias (razão de risco de 1,04, intervalo de confiança de 95% de 0,84-1,30, $p=0,70$) ou quanto à reversão da síndrome hepatorenal (razão de risco de 1,03, intervalo de confiança de 95% de 0,81-1,31, $p=0,80$). Como não foi detectada heterogeneidade significativa entre os estudos, a metanálise foi repetida pelo modelo de efeitos fixos, sem que houvesse alteração relevante dos resultados. O cálculo do tamanho ótimo da informação demonstrou que seria necessário avaliar 3000 pacientes para detectar uma diferença de 10% ou 495 pacientes para detectar uma diferença de 25% na eficácia das drogas, assumindo uma eficácia de 50% para a noradrenalina. Sob a perspectiva do sistema público de saúde, os custos dos tratamentos com terlipressina ou noradrenalina foram 287,77 e 2960,45 Dólares Internacionais (Int\$) respectivamente. Sob a perspectiva do hospital geral, os custos dos tratamentos com terlipressina ou noradrenalina foram Int\$7437,04 e Int\$8406,41 respectivamente. Quanto à perspectiva do plano de saúde privado, os custos dos tratamentos com terlipressina ou noradrenalina foram Int\$13484,57 e Int\$15061,01 respectivamente. Na análise de sensibilidade probabilística, a estratégia que utilizou terlipressina seguiu mais vantajosa que aquela que utilizou noradrenalina. **Conclusões:** Não houve evidência de superioridade entre as estratégias de tratamento com terlipressina ou noradrenalina quanto à sobrevida de pacientes com síndrome hepatorenal ou quanto à reversão da síndrome, mas a estratégia envolvendo terlipressina foi mais econômica sob três perspectivas distintas.

Cirrose hepática/ injúria renal aguda/prognóstico

Célio Geraldo de Oliveira Gomes Orientador: Eduardo Garcia Vilela.

Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), BH, MG, Brasil.

Introdução: A injúria renal aguda (IRA) acomete cerca de 20% dos cirróticos internados. A mortalidade estimada desses pacientes é em torno de 60% em um mês e de 65% em um ano. A IRA também se constitui em fator predisponente importante para outros eventos e se relaciona à redução da sobrevida em pacientes submetidos ao transplante hepático, quando comparados àqueles sem IRA. No nosso meio, os dados referentes à prevalência e ao prognóstico da IRA ainda são escassos. **Métodos:** trata-se de um estudo prospectivo, observacional, em que foram incluídos pacientes cirróticos com idade superior a 18 anos, internados no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, que apresentaram IRA, segundo os critérios do International Club of Ascites (ICA-AKI), à admissão ou em qualquer momento da sua internação. Dados clínicos e

laboratoriais foram coletados ao diagnóstico. **Resultados:** foram selecionados 52 pacientes entre outubro de 2011 e setembro de 2015. A média de idade foi de 54,6 ($\pm 10,7$) anos e 69,2% eram do gênero masculino. A média dos escores MELD, MELD-Na e de Child-Pugh foi de 21,9 (± 7), 24,5 ($\pm 6,7$) e 10,1 ($\pm 2,2$), respectivamente. Trinta pacientes (57,7%) se apresentaram em IRA estágio 1, 16 (30,8%) em estágio 2 e seis (11,5%) em estágio 3. Entre as causas de IRA, as infecções foram responsáveis por 22 (42,3%) casos, a hipovolemia por 15 (28,8%), a síndrome hepatorenal por seis (9,6%), causas mistas por quatro (7,7%) e nefropatia parenquimatosa por três (5,8%). A mortalidade foi de 28,6% em 30 dias e de 44,9% em três meses. Na análise multivariada, as variáveis que foram associadas de maneira independente à mortalidade foram a resposta ao tratamento expansor e o escore de Child-Pugh. A mortalidade foi de 93,3% entre os não respondedores, contra 28,6% entre os que responderam à expansão volêmica ($p < 0,0001$). **Conclusão:** a IRA na cirrose tem mau prognóstico em curto e em médio prazo, especialmente nos pacientes com cirrose avançada e naqueles que não respondem à expansão volêmica.

ÍNDICE

A

Alessandro de Moura Almeida.....	23
Aline Márcia Marques Braz Rosso.....	24,27
Anderson Brito de Azevedo Silva.....	10
Andreza Pinheiro Malheiros.....	21
Ângelo Zambam de Mattos.....	29
A.M.M Pierre.....	26

B

Bernardo Times de Carvalho.....	29
---------------------------------	----

C

Camila Guerra Marangon.....	22
Carina Sperotto Librelotto.....	3
Cassia Regina Guedes Leal.....	17
Célio Geraldo de Oliveira Gomes.....	30
C.M Watanabe.....	15
C.T Emori.....	19

D

Daniela Malta da Silva Pontual.....	19
Débora Raquel Benedita Terrabuio.....	3
Diego A. Vieira.....	17
Dimas Alexandre Kliemann.....	23

E

Evandro de Oliveira Souza.....	11
--------------------------------	----

F

Fabio Christiane de Oliveira Felix Cachem.....	14
Fernanda Couto Ferreira.....	20
Flavia Ferreira Fernandes.....	9,17
F.G.B Costa.....	5
F.S Yamashiro.....	24, 27

I

Ingrid de Campos Albuquerque.....	23
-----------------------------------	----

J

João Marcello de Araujo Neto.....	14
Josiane Fischer.....	1
Juliana Goldbaum Crescente.....	7
Juliana Ribeiro de Carvalho.....	9

K

Karine Vieira Gaspareto.....	28
------------------------------	----

Karla Sawada Toda.....	6
Kiara G.D Diniz.....	15

L

Laura Alencastro de Azevedo.....	13
Liana Ribeiro Gouveia.....	21
Lívia Alves Amaral Santos.....	8
Lívia Melo Carone Linhares.....	12
Lúcia Helena de Oliveira Cordeiro.....	6
Luciana Rodrigues da Cunha.....	13
Lydia Teófilo de Moraes Falcão.....	18

M

Maria Isabel Magalhaes Andrade dos Santos.....	24
--	----

N

Natália Bronzatto Medolago.....	16
---------------------------------	----

P

Patricia Quadros dos Santos Trigueiro.....	19
--	----

R

Rafael O. Ximenes.....	9
Raffaelle Kasproicz Barros.....	22
Rita Chelly Felix Tavares.....	4
Rodrigo F Carmo.....	28
Rodrigo Pereira Luz.....	8

S

Sabrina Alves Fernandes.....	16
Sidelcina Rugieri Pacheco.....	12
S. Uehara.....	28

T

Tatiana Bering.....	26
Thayanna Araújo Capitania.....	27
T. Medeiros.....	18

V

Vanessa Duarte da Costa.....	13
Vânia P. Sarmiento.....	25

Y

Yanaihara Pinchemel Amorim De Oliveira.....	4
---	---

