

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

Aécio Flávio Meirelles de Souza

**PREVALÊNCIA E IMPACTO DA RESISTÊNCIA
INSULÍNICA EM PORTADORES DE HEPATITE CRÔNICA C
NÃO DIABÉTICOS.**

JUIZ DE FORA

2011

AÉCIO FLÁVIO MEIRELLES DE SOUZA

**PREVALÊNCIA E IMPACTO DA RESISTÊNCIA
INSULINICA EM PORTADORES DE HEPATITE CRÔNICA C
NÃO DIABÉTICOS.**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Saúde, área de concentração em Saúde Brasileira da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial à obtenção do Título de Doutor em Saúde.

Orientador: Professor Doutor Júlio Maria Fonseca Chebli

JUIZ DE FORA

2011

Souza, Aécio Flávio Meirelles de.

Prevalência e impacto da resistência insulínica em portadores de hepatite crônica C não diabéticos/ Aécio Flávio Meirelles de Souza. – 2011.

67 fls.

Tese (Doutorado em Saúde Brasileira)—Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2011.

1. Hepatite C. 2. Fibrose hepática. 3. Resistência insulínica. I. Título.

CDU 616.36-002

DEDICATÓRIA

Aos pacientes do Centro de Referência em Hepatologia, que tornaram possível a realização deste trabalho.

Aos meus pais, Nelson e Josefina, a quem me espelhei na formação do meu caráter.

À Inês, minha querida namorada e companheira de toda a vida, pelo seu carinho, compreensão e apoio constante, sem os quais não seria possível vencer os meus desafios.

Aos meus queridos filhos e amigos, Gustavo, Ricardo, Daniel, a quem dedico a minha vida acadêmica, e me retribuíram ao abraçar a Medicina.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Adilton Toledo Ornellas, amigo inseparável de toda vida, que com seus conselhos, seu caráter, sua defesa intransigente dos conceitos éticos e dos menos afortunados, foi o grande responsável pela minha formação médica.

Ao Professor Dr Renato Dani, de suma importância na realização dos meus ideais universitários.

Ao Professor Dr Luiz Caetano da Silva, meu primeiro mestre em Hepatologia, pelos ensinamentos que me transmitiu.

Ao Professor Dr Adavio de Oliveira e Silva, meu amigo fraterno, que sempre me estimulou, com suas idéias inovadoras, a buscar novos desafios científicos.

Ao Professores Dr Patrick Marcellin e Jean Pierre Benhamou, que com seus conhecimentos e metodologia científica, foram de inestimável importância no meu aprimoramento em Hepatologia.

Ao Professor Dr Júlio Maria Fonseca Chebli, exemplo de pesquisador científico, pela sua incansável ajuda na conclusão deste trabalho.

Ao Professor Dr Fábio Heleno de Lima Pace, grande amigo, com quem tenho o prazer de trabalhar desde a época da sua residência médica, pela sua disponibilidade de tempo, seu dinamismo, grande incentivador em nossos afazeres acadêmicos e pela grande ajuda na realização desta tese.

Aos amigos e colegas do Serviço de Gastroenterologia, do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora, em especial àqueles do Centro de Referência em Hepatologia, Professores Dr Fábio Heleno de Lima Pace, Professora Dra Kátia Valeria Bastos Dias Barbosa, Professora Dra Tarsila Campana, Dr Juliano Machado de

Oliveira, Dra Flora Adelina Miguel Bastos Almeida, pelo auxílio no atendimento médico, coleta de dados e biopsias hepáticas dos pacientes.

Ao Dr Lincoln Eduardo Vilella Vieira de Castro Ferreira pela sua amizade e dedicação aos nossos projetos científicos comuns.

À Professora Dra. Ângela Maria Gollner, pela sua inestimável colaboração na avaliação e revisão das histologias hepáticas.

Aos estudantes da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora e, principalmente, aos médicos Residentes do Serviço de Gastroenterologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora, que compartilham da luta diária para fornecer atendimento adequado aos nossos pacientes e que sempre me estimularam com seu interesse pelo aprendizado da medicina.

À nossa incansável secretária Roseli Nair Mendes Cobuci, pela realização prazerosa dos afazeres do Centro de Referência em Hepatologia, com a coordenação das consultas médicas e pelos lembretes diários das nossas atividades.

Aécio Flávio Meirelles de Souza


**PREVALÊNCIA E IMPACTO DA RESISTÊNCIA
INSULÍNICA EM PORTADORES DE HEPATITE CRÔNICA
C NÃO DIABÉTICOS**

Tese de doutorado apresentada
ao Curso de Doutorado do
Programa de Pós-graduação em
Saúde, área de concentração em
Saúde Brasileira da Faculdade de
Medicina da Universidade Federal
de Juiz de Fora, como requisito
parcial à obtenção do Título de
Doutor em Saúde.

Aprovada em: 10/10/2011



Prof. Dr. Júlio Maria Fonseca Chebli - UFJF



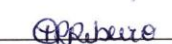
Prof. Dr. Fábio Heleno de Lima Pace - UFJF



Prof. Dr. Lincoln Eduardo Vilella Vieira de Castro Ferreira - UFJF



Profa. Dra. Kátia Valéria Bastos Dias Barbosa – SUPREMA



Profa. Dra. Tarsila Campanha da Rocha Ribeiro – SUPREMA

Orientador: Professor Doutor Júlio Maria Fonseca Chebli

JUIZ DE FORA

2011

RESUMO

Objetivos: verificar a prevalência de resistência insulínica (RI) em portadores de hepatite crônica C não diabéticos e analisar o impacto da mesma sobre os parâmetros laboratoriais e histológicos. **Sujeitos e métodos:** foram incluídos no estudo 82 pacientes e amostras de sangue foram coletadas para determinação de glicose, perfil lipídico, ALT, AST, ferritina, HOMA-IR, carga viral e genótipo do VHC. HOMA-IR superior a 2,5 foi considerado resistência insulínica. **Resultados:** RI foi observada em 27% dos pacientes e foi associada a idade, circunferência abdominal e índice de massa corpórea. Quando comparado a pacientes sem RI, aqueles com HOMA-IR superior a 2,5 apresentaram graus mais acentuados de fibrose hepática e atividade necro-inflamatória, maiores níveis de aminotransferases e esteatose hepática mais freqüente. **Conclusões:** É comum a presença de RI em portadores de hepatite crônica C e esta tem como resultado a acentuação da fibrose hepática induzida pelo vírus da hepatite C. **DESCRITORES:** Hepatite crônica C, fibrose hepática, resistência insulínica, HOMA-IR

Palavras chaves: Hepatite crônica C. fibrose hepática. resistência insulínica. HOMA-IR.

ABSTRACT

Objectives: To determine the prevalence of insulin resistance (IR) in patients non-diabetic with chronic hepatitis C and analyze the impact of insulin resistance on laboratory and histology parameters. **Subjects and methods:** The study included 82 patients and blood samples were collected for glucose, lipid profile, CRP, ferritin, ALT, AST, HOMA-IR, viral load and HCV genotype. HOMA-IR greater than 2.5 were considered insulin resistance. **Results:** Insulin resistance was observed in 27% of patients and was associated with age, waist circumference and body mass index. When compared with patients without RI those with insulin resistance had more pronounced stage of hepatic fibrosis and necroinflammatory activity, higher levels of aminotransferases and liver steatosis more frequently. **Conclusions:** It is often the presence of insulin resistance in patients with chronic hepatitis C and this has resulted in the exacerbation of liver fibrosis induced by HCV.

Keywords: Chronic hepatitis C. liver fibrosis. insulin resistance. HOMA-IR.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Demographic and anthropometric characteristics of the 82 patients analyzed, according to the presence or absence of insulin resistance.....	64
Tabela 2 - Clinical and anthropometric data of the 82 patients, according to the presence or absence of insulin resistance (IR).....	65
Tabela 3 - Laboratory data of the 82 patients, according to the presence or absence of insulin resistance (IR).....	66
Tabela 4 - Histological data of the 80 patients, according to the presence or absence of insulin resistance (IR).....	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AHA	- American Heart Association
ALT	- Alanino aminotransferase
Anti-HCV	- Anticorpo contra o vírus da hepatite C
AP	- Atividade protrombina
APP	- Atividade inflamatória periportal
AST	- Aspartato aminotransferase
ATPIII	- Adult treatment Panel III
CA	- Cintura abdominal
CHC	- Carcinoma hepatocelular
DHGNA	- Doença hepática gordurosa não álcool
DM2	- Diabetes mellitus do tipo 2
DP	- Desvio padrão
EDA	- Endoscopia digestiva alta
EH	- Esteatose hepática
EHNA	- Esteatohepatite não alcoólica
ELISA	- Ensaio imunoenzimático
F	- Fibrose hepática
GGT	- Gama glutamil transpeptidase
HBsAg	- Antígeno de superfície do vírus da Hepatite B
HDL	- Lipoproteína de alta densidade do colesterol
HIV	- Vírus da imunodeficiência humana
HOMA-IR	- Homeostasis metabolic assesment for insulin resistance
HU-UFJF	- Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora
IDF	- Interantional Diabetes Federation
IL-6	- Interleucina -6
IMC	- Índice de massa corpórea
ISR-1	- insulin substrate receptor -1
mRNA	- Ácido ribonucleico mensageiro

NANHES-III	- Third National Health and Nutrition Examination Survey
NUPAD	- Núcleo de apoio ao diagnóstico
OMS	- Organização Mundial da Saúde
P	- Significância estatística
PAS	- Pressão arterial sistêmica
PCR	- Proteína C reativa
RI	- Resistência insulínica
RNA	- Ácido ribonucleico
RNA-HCV	- Acido ribonucléico do vírus da hepatite C
RNI	- Relação normatizada internacional
RVS	- Resposta virológica sustentada
SM	- Síndrome Metabólica
SOC	- Standard off care
SOCS	- Supresseur of cytokines signaling
STAT	- Signal Transducer and activator of transcription
TCLE	- Termo de consentimento livre e esclarecido
TNF	- Fator de necrose tumoral
USG	- ultrassonografia
VHB	- Vírus da hepatite B
VHC	- Vírus da hepatite C

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1.	Hepatite crônica C.....	14
1.1.1.	Considerações gerais.....	14
1.1.2.	História natural.....	16
1.1.3.	Hepatite crônica C e síndrome metabólica.....	17
1.1.4.	Hepatite crônica C e resistência insulínica.....	20
1.1.4.1	Hepatite crônica C e resistência insulínica: relação com a progressão da fibrose hepática.....	22
1.1.4.2	Hepatite crônica C e resistência insulínica: relação com terapia antiviral...	24
2	OBJETIVOS.....	26
3	CASUÍSTICA E MÉTODO.....	27
3.1	Desenho do estudo.....	27
3.2	Casuística.....	27
3.3	Método.....	28
3.3.1	Variáveis Demográficas, epidemiológicas e antropométricas.....	28
3.3.2	Variáveis Laboratoriais.....	29
3.3.3	Variáveis histológicas.....	30
3.3.4	Diagnóstico de síndrome metabólica.....	31
3.3.5	Diagnóstico de resistência insulínica.....	32
3.4	Análise Estatística.....	32
4	CONCLUSÕES.....	33
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
	APÊNDICE A – Questionário.....	41
	APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	42
	APÊNDICE C – Artigo Original do Estudo.....	45

1 INTRODUÇÃO

1.1 HEPATITE CRÔNICA C

1.1.1 Considerações gerais

A infecção crônica pelo vírus da hepatite C (VHC) é uma das principais causas de doença hepática crônica em todo o mundo. Estima-se que 27% dos casos de cirrose hepática e 25% dos casos de carcinoma hepatocelular (CHC) sejam decorrentes da infecção crônica pelo VHC (1). Nos EUA, representa a principal causa de cirrose hepática e de indicação de transplante hepático (2).

Em 2004, o *Global Burden of hepatitis C Working Group*, órgão vinculado a Organização Mundial de Saúde (OMS), estimou que 2,2% da população mundial, isto é, 130 milhões de pessoas estejam infectadas pelo VHC, com a maior prevalência observada no Egito e a menor na Finlândia (3). Entretanto, taxas de prevalência global variáveis têm sido relatadas nos diversos estudos (4-6). Nos EUA, de acordo com as estimativas mais recentes 1.6% da população apresentam o anticorpo contra o vírus da hepatite C (anti-HCV) (7). No Brasil, conforme dados da Organização Mundial de Saúde 2,5 a 4,9% da população, apresentam o anticorpo contra o vírus da hepatite C (8). Em 1998, Focaccia *et al.*, verificaram a presença do anticorpo anti-HCV em 1,42% de 1049 indivíduos pesquisados, residentes na cidade de São Paulo (9). Investigadores do Centro de Referência em Hepatites Virais do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (HU-UFJF) realizaram pesquisa espontânea do anti-HCV em 4753 indivíduos residentes na Zona da Mata Mineira, com idade entre 18 e 70 anos, encontrando uma prevalência de 1,64%, muito semelhante àquela observada no inquérito da Sociedade Brasileira de Hepatologia (dados não publicados).

Nos EUA, a incidência anual da hepatite C tem caído dramaticamente. Em 1980, 180.000 novos casos de hepatite C aguda foram relatados, enquanto que em 2006,

somente 19.000 casos foram registrados (7). Entretanto, é possível que estes números sejam subestimados uma vez que a maioria das hepatites agudas, pelo VHC, é assintomática. A redução no número de casos de hepatite aguda C é resultado, sobretudo, da pesquisa obrigatória do anti-HCV em potenciais doadores de sangue e programas de assistência a usuários de drogas intravenosas.

O conhecimento a respeito da hepatite crônica C tem crescido rapidamente nos últimos anos, com a melhor compreensão dos aspectos ligados a virologia, patogenia e história natural. O vírus da hepatite C (VHC) é constituído por um genoma de ácido ribonucleico (RNA) simples, de sentido positivo, que é usado diretamente como mRNA na síntese protéica. Pertence ao gênero *Hepacivirus* da família *Flaviridae*, sendo constituído por cerca de 9600 nucleotídeos, apresentando seis genótipos principais e uma grande variabilidade de subtipos (10, 11). No mundo, a distribuição dos genótipos é variável, mas prevalece o genótipo 1 na maioria dos continentes (12). No Brasil, predomina o genótipo 1, subtipo 1b, em todas as regiões. Embora na região sul, o genótipo 1 também seja o mais prevalente, há uma freqüência mais elevada do genótipo 3 do que no resto do nosso país (13).

Até 1991, e no Brasil presumivelmente até 1993, o principal modo de aquisição do VHC era a transfusão de sangue e hemoderivados. Em séries históricas, aproximadamente 10% dos pacientes submetidos a transfusão de sangue adquiriram o VHC (14). Atualmente, com a pesquisa obrigatória do anti-HCV em doadores de sangue, o risco de aquisição do VHC por hemotransfusão caiu vertiginosamente, sendo de 1 para cada 2.000.000 de unidades de sangue transfundidas (15). Com a redução no número de casos relacionados à transfusão de sangue, o uso de drogas ilícitas tem prevalência estimada entre 57 a 90%, o que demonstra a elevada transmissibilidade do VHC por esta via (16). Por outro lado, a transmissão sexual do VHC é baixa. Em estudo prospectivo, que seguiu parceiros monogâmicos de pacientes infectados pelo VHC, que não relatavam práticas sexuais de risco, nenhum caso de infecção pelo VHC, com a mesma seqüência genética, foi identificado após 10 anos de seguimento (17). Comparada com a elevada capacidade de transmissão perinatal do vírus da hepatite B (VHB), o VHC é transmitido de modo ineficiente por esta via, com o risco estimado entre 5,1 a 6,7%. A transmissão vertical do VHC é aumentada duas a três vezes nos

pacientes coinfectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), como resultado da maior carga viral do VHC secundária à imunossupressão causada pelo HIV (18, 19). Cabe ressaltar que 9 a 27% dos portadores de hepatite crônica C não apresentam modo de aquisição conhecido. Estes casos esporádicos, provavelmente resultam da contaminação por exposição percutânea não reconhecida (16).

1.1.2 História natural

Nos últimos anos, a história natural da hepatite crônica C tem sido melhor estabelecida. Após infecção aguda pelo VHC, geralmente assintomática, com período de incubação de 45 dias, a evolução para infecção crônica ocorre em 50 a 90% dos casos (20, 21). O VHC é capaz de desorganizar a resposta imune do hospedeiro em seus diversos níveis, o que justifica a elevada taxa de persistência do vírus após a infecção aguda (22).

Uma vez estabelecida a doença crônica, esta tem progressão variável ao longo do tempo (23). A fibrogênese é um processo complexo e dinâmico caracterizado pela deposição de matriz extracelular no parênquima hepático, secundário à ativação das células estelares hepáticas situadas no espaço de Disse (24). Portadores de hepatite crônica C apresentam velocidades distintas de progressão da fibrose hepática. De acordo com Poynard *et al.* (2001) há três padrões de progressão da fibrose hepática induzida pelo VHC que são: os fibrosantes rápidos, os intermediários e os lentos ou não fibrosantes. Os fibrosantes rápidos desenvolvem cirrose hepática em média 20 anos após a infecção viral, enquanto nos fibrosantes lentos, tal intervalo pode ser até de 50 anos. Portanto, é lógico inferir que fatores diversos ligados ao vírus, ao hospedeiro ou ao ambiente influenciariam este processo. Neste clássico estudo realizado por Poynard *et al.*(2001), variáveis ligadas ao hospedeiro como o sexo masculino, a idade superior a 40 anos no momento da infecção pelo VHC e o consumo de álcool maior que 50 g/dia, foram associadas, de modo independente, à progressão da fibrose hepática induzida pelo VHC (25). O genótipo e a carga viral do VHC não parecem interferir no risco de

desenvolvimento de cirrose hepática. Entretanto, outros fatores tais como, a coinfeção com o HIV, com o vírus da hepatite B (VHB) podem acelerar a progressão da fibrose hepática induzida pelo VHC (26). Geralmente, na coinfeção VHB-VHC há diminuição da replicação do VHC, embora este permaneça dominante nesta associação. O dano hepático resultante da presença simultânea de ambos os vírus é usualmente pior, com progressão mais rápida da fibrose hepática e maior incidência de carcinoma hepatocelular (27). Está bem estabelecido que portadores de coinfeção HCV-HIV apresentam progressão mais rápida da fibrose hepática quando comparados a indivíduos infectados somente pelo VHC (26). Recentemente, a presença de esteatose hepática (EH), resistência à insulina (RI) e síndrome metabólica (SM), condições intimamente relacionadas entre si, também têm sido associadas com a fibrogênese hepática em indivíduos com hepatite crônica C (28, 29).

1.1.3 Hepatite crônica C e síndrome metabólica

A síndrome metabólica (SM) pode ser definida como um conjunto de alterações metabólicas que resulta em um estado inflamatório crônico decorrente dos níveis elevados de citocinas circulantes. É caracterizada pela presença de alterações do metabolismo glicêmico, dislipidemia aterogênica (redução dos níveis de lipoproteína de alta densidade do colesterol - HDL), hipertensão arterial, obesidade central e disfunção endotelial. Configura importante fator de risco para o surgimento de doenças cardiovasculares e diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Tem como mecanismo fisiopatogênico principal a resistência insulínica que é entendida como uma sensibilidade inadequada de determinados tecidos a quantidades fisiológicas de insulina plasmática circulante (30, 31).

O diagnóstico de síndrome metabólica pode ser estabelecido de acordo com diversos critérios. Segundo os estabelecidos pela *International Federation of Diabetes (IDF)*, *American Heart Association (AHA)* e *National Heart, Lung and Blood Institute*, um indivíduo é considerado portador de síndrome metabólica caso apresente três ou mais

dos seguintes critérios: pressão arterial sistêmica (PAS) > 130 x 85 mmHg, lipoproteína de alta densidade (HDL) colesterol < 40 mg/dL para homens e < 50 mg/dL para mulheres, triglicérides > 150 mg/dL, glicemia de jejum > 100 mg/dL, circunferência abdominal > 90 cm em homens e > 80 cm em mulheres (níveis recomendados para a população da América do Sul e Central segundo a *International Diabetes Federation*) (32).

Estima-se que 25% da população adulta mundial apresenta síndrome metabólica. Em países ocidentais, a síndrome metabólica, definida pelos critérios diagnósticos propostos pelo *Adult Treatment Panel III* (ATPIII), acomete aproximadamente 40% da população acima dos 50 anos de idade (33). No Brasil, há poucos estudos populacionais verificando a prevalência de SM, mas conforme dados recentemente publicados por Silveira *et al.* a SM, segundo os critérios ATPIII, foi detectada em 5,9% de 3.599 habitantes da cidade de Pelotas (34).

Além de representar fator de risco para doenças cardiovasculares e DM2, estudos recentes têm associado claramente a síndrome metabólica com a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), sendo esta considerada a manifestação hepática da síndrome metabólica (35, 36). A DHGNA é caracterizada por infiltração de gordura no parênquima hepático (esteatose), associada ou não a infiltrado inflamatório, balonização de hepatócitos e fibrose hepática, o que configura histologicamente, a esteato-hepatite não alcoólica (EHNA). Os pacientes com EHNA são os que apresentam maior risco de desenvolvimento de cirrose hepática e carcinoma hepatocelular (37, 38). Hoje, a DHGNA representa a principal causa de doença hepática crônica na América do Norte, onde acomete cerca de 30% da população (39).

Nos últimos anos, diversos estudos têm demonstrado que a hepatite crônica C é associada de modo frequente a transtornos metabólicos tais como a obesidade, alterações no metabolismo glicêmico e predisposição ao DM2 (40-42). A esteatose hepática, condição intimamente relacionada a estas alterações metabólicas, é frequentemente observada em portadores de hepatite crônica C. De um modo geral, estima-se que 40 a 50% dos portadores de hepatite crônica C apresentam algum grau de infiltração gordurosa do parênquima hepático à análise histológica (43, 44).

A maior frequência de esteatose hepática em portadores de hepatite crônica C pode ser consequência de fatores ligados ao hospedeiro (síndrome metabólica) ou resultar da ação direta do VHC. De acordo com Sanyal (2005) a presença de síndrome metabólica foi encontrada em 90% dos pacientes com hepatite crônica C associada DHGNA e em 35% daqueles com infecção crônica pelo VHC isolada (45). Portanto, parece que a presença de DHGNA em indivíduos com hepatite crônica C está fortemente relacionada à síndrome metabólica.

A ação esteatogênica do VHC pode ser consequência da ação citopática do próprio vírus e parece ser dependente do genótipo, sendo mais relacionada ao tipo 3 (46). Em modelos experimentais, Perlemuter *et al.*, (2000) demonstraram que a proteína core do VHC inibe a atividade da proteína de transferência de triglicérides microsomal, regulador chave da captação e secreção de partículas de lipoproteínas de muito baixa densidade ricas em triglicérides, o que resulta no acúmulo de gotículas de lipídios intracitoplasmáticos, marcador histológico da esteatose hepática (47). Além disto, outras evidências que também ratificam a ação esteatogênica direta do genótipo 3 é a regressão da esteatose hepática com a obtenção de resposta virológica sustentada após a terapia antiviral e a relação direta entre a carga viral do VHC e intensidade da esteatose hepática (48, 49). Por outro lado, em portadores de hepatite crônica C genótipo 1 a esteatose hepática não parece resultar da ação citopática do vírus, mas provavelmente resulta de alterações metabólicas (obesidade visceral e resistência insulínica) relacionadas ao hospedeiro. Nestes pacientes, a intensidade da esteatose hepática não se relaciona com a carga viral do VHC e não há melhora da infiltração gordurosa a nível histológico após erradicação viral (50). Portanto, o VHC, independente do genótipo, ocasiona o surgimento de esteatose hepática, mas por mecanismos distintos.

1.1.4 Hepatite crônica C e resistência insulínica

A resistência insulínica é um distúrbio metabólico caracterizado por hiperinsulinemia e que tem como conseqüências mais importantes a propensão ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares e DM2 (31). Entre a população branca estima-se que 3 a 16% apresentem resistência insulínica, enquanto no Japão, somente 2% da população são considerados portadores de resistência insulínica (51, 52).

A insulina é um hormônio anabólico que tem como ação primária a facilitação da captação da glicose pelos músculos, fígado e tecido adiposo. Adicionalmente, a insulina regula a lipólise e a produção hepática de glicose. A resistência insulínica pode então ser compreendida como uma menor resposta destes tecidos a quantidades fisiológicas de insulina plasmática circulante, o que resulta em uma captação inadequada de glicose (31). Pode surgir em decorrência de transtornos genéticos ou metabólicos, sobretudo a obesidade visceral (53).

Para determinação da resistência insulínica há diversas técnicas descritas na literatura, entretanto, não há recomendação formal quanto ao melhor método a ser utilizado na prática clínica. O HOMA-IR (*Homeostasis Metabolic Assesment for Insulin Resistance*) é uma forma indireta de avaliação da RI que tem boa correlação com a medição da sensibilidade à insulina obtida por técnica de clampeamento euglicêmico /hiperinsulinêmico, método considerado padrão ouro. O HOMA-IR baseia-se nas dosagens de insulina sérica basal e da glicemia após jejum de 12 horas. Embora amplamente utilizado na prática clínica, não existe consenso sobre qual nível de HOMA-IR representa de forma confiável a presença de resistência insulínica (54). No Brasil, em estudo populacional realizado por Geloneze *et al.*, (2009) o nível de HOMA-IR igual ou superior a 2,7 foi o que melhor se correlacionou com a presença de resistência insulínica (55).

É sabido que a cirrose hepática independente do agente causal constitui fator de risco para o surgimento de DM2. De acordo com Hickman & Macdonald (2007), 96% e 30% dos pacientes com cirrose hepática têm intolerância à glicose e DM2,

respectivamente (56). O diabetes mellitus que surge como conseqüência da cirrose hepática é habitualmente denominado de diabetes hepatógeno. O fígado desempenha papel importante na manutenção dos níveis glicêmicos normais, uma vez que atua tanto na gliconeogênese quanto na glicogenólise. Embora o mecanismo não seja totalmente elucidado é provável que o diabetes hepatógeno surja como resultado do aparecimento de resistência insulínica, com menor extração hepática de insulina ou por disfunção das células pancreáticas do tipo beta (57).

De acordo com estudos existentes na literatura, é provável que especificamente o VHC induza resistência insulínica e predisponha ao desenvolvimento de DM2, mesmo na ausência de fibrose hepática avançada. Hui et al.(2003), demonstraram que portadores de hepatite crônica C sem fibrose hepática significativa apresentaram níveis maiores de insulina, HOMA-IR e peptídeo C quando comparados a indivíduos sadios pareados por parâmetros metabólicos (28). Portadores de hepatite crônica C, que obtiveram resposta virológica sustentada após terapia antiviral, apresentaram menor chance de desenvolvimento de DM2 e alterações glicêmicas, quando comparados aos não respondedores (58, 59). Portanto, tais estudos demonstram de modo indireto a relação causa-efeito entre infecção crônica pelo VHC e resistência insulínica.

Em 1994, Alisson *et al.*, foram os primeiros a identificar uma possível associação entre o VHC e DM2. Tais autores incluíram no estudo, de forma consecutiva, 100 portadores de cirrose hepática de etiologia variada em fila de transplante hepático. A presença de DM2 foi observada em 50% dos 34 pacientes cuja etiologia do comprometimento hepático foi o VHC e em somente 9% daqueles em que a cirrose hepática foi causada por outros agentes que não o VHC (60). A partir de então diversos estudos buscando verificar a associação entre DM2 e VHC foram publicados (61, 62). Wang *et al.*, (2007) seguiram 4598 indivíduos entre 1997 e 2003, sendo 812 portadores de hepatite crônica C. Durante o período do estudo, 474 novos casos de DM2 foram diagnosticados. Foi possível demonstrar, após análise multivariada, que idade, obesidade ou sobrepeso e infecção pelo VHC foram associados de modo independente ao surgimento do DM2 (42). De acordo com Mehta *et al.*, (2000) portadores de hepatite crônica C com idade superior a 40 anos apresentam risco 3.77 vezes maior de surgimento de DM2 (63). Portanto, parece haver evidências suficientes

que comprovam a associação entre VHC e desenvolvimento de resistência insulínica e DM2.

Embora os mecanismos envolvidos no surgimento da RI em portadores de infecção crônica pelo VHC ainda não estejam plenamente esclarecidos, a modificação das vias de sinalização da insulina pelas proteínas virais, o processo inflamatório crônico resultante da infecção pelo VHC, com superprodução de fator de necrose tumoral (TNF), que resulta na fosforilação de resíduos da serina do *insulin substrate receptor -1* (ISR-1), a menor expressão de genes relacionados ao metabolismo da glicose e finalmente, a degradação de substratos de receptores de insulina são justificativas atualmente aventadas (64, 65). Além disso, estudos têm suportado o conceito de que estados inflamatórios crônicos predispõem ao desenvolvimento de resistência insulínica. A hepatite crônica C é um processo inflamatório crônico do fígado, no qual há um aumento de citocinas pró-inflamatórias circulantes, tais como o fator de necrose tumoral (TNF) e a interleucina 6 (IL-6), os quais podem, por si só, desencadear ou potencializar a resistência insulínica (66).

1.1.4.1 Hepatite crônica C e resistência insulínica: relação com a progressão da fibrose hepática

Nos últimos anos, as inter-relações entre RI e hepatite crônica C tem sido alvo de diversos estudos. Especula-se que portadores de hepatite crônica C com resistência insulínica apresentam maior progressão da fibrose hepática. Estudos têm demonstrado uma correlação direta entre o grau de RI e a intensidade da fibrose hepática em portadores de hepatite crônica C. Trabalho publicado por Hui *et al.* 2003, no qual foram incluídos 260 portadores de hepatite crônica C, não diabéticos, índices elevados de HOMA-IR foram associados de modo independente à fibrose hepática avançada e à acelerada progressão da fibrose hepática. (28).

Os mecanismos subjacentes pelos quais a resistência insulínica agrava a fibrose hepática ainda estão por ser plenamente esclarecidos. A resistência insulínica é um fator patogênico importante para o desenvolvimento da esteatose hepática pois deflagra uma cascata de eventos que resulta em liberação excessiva de ácidos graxos livres em direção ao parênquima hepático. Quando a captação de ácidos graxos livres provenientes do plasma e a síntese "de novo" destes produtos supera a capacidade de oxidação e exportação do hepatócito sob a forma de triglicerídeos, estes se acumulam no parênquima hepático, originando a esteatose hepática. De acordo com Leandro et al., em metanálise publicada em 2006 na qual foram analisados dados individuais de 3068 pacientes de cinco diferentes países, foi demonstrado que a esteatose hepática é associada à atividade inflamatória e acelera a progressão da fibrose hepática induzida pelo VHC. A esteatose hepática pode facilitar o desenvolvimento de fibrose hepática através da geração de estresse oxidativo resultante do acúmulo de lipídios no hepatócito, que leva a uma maior secreção de citocinas inflamatórias, formação de espécies reativas de oxigênio e ativação de células estreladas hepáticas, etapa fundamental para o início da fibrogênese hepática (67).

É possível que a relação entre RI e fibrose hepática induzida pelo VHC não seja necessariamente direta. Fatores que promovem a RI poderiam ser responsáveis pela progressão da fibrose hepática (67). Na síndrome metabólica, onde se observa um nível elevado de citocinas pró-inflamatórias, estas podem atuar sobre o parênquima hepático e desencadear o processo de fibrogênese hepática. Entre estas citocinas, a leptina parece desempenhar importante papel (68).

Além de acentuar a fibrose hepática induzida pelo VHC, a RI também parece facilitar o surgimento de neoplasias, embora as citocinas específicas envolvidas neste processo e os mecanismos subjacentes ainda não estejam completamente elucidados. Estudos têm demonstrado que portadores de hepatite crônica C e DM2 apresentam maior chance de surgimento de carcinoma hepatocelular (69).

1.1.4.2. Hepatite crônica C e resistência insulínica: relação com terapia antiviral

Atualmente, com a terapia SOC (*standard of care*) que inclui o uso de Interferon peguilado e ribavirina, 40 a 50% dos portadores de hepatite crônica C obtém resposta virológica sustentada (RVS). Em portadores de hepatite crônica C, diversos fatores podem influenciar a probabilidade de RVS, entre estes, se destaca o genótipo, a carga viral e a cinética viral (70-72). Mais recentemente, Romero-Gomez *et al.*, (2005) demonstraram que a RI influencia a chance de resposta virológica sustentada (RVS) em portadores de hepatite crônica C genótipo 1 submetidos a terapia com interferon peguilado e ribavirina. A resposta virológica sustentada foi de 60% naqueles com HOMA-IR inferior a 2 e de 32% nos pacientes com HOMA-IR superior a 2 (73). Corroborando a ação indutora de resistência insulínica do VHC, os mesmos autores observaram que a obtenção de resposta virológica sustentada após o tratamento é capaz de restabelecer a sensibilidade à insulina (58).

No entanto, não se conhece de forma clara como a RI interfere na chance de RVS após terapia antiviral. Não se sabe se a RI interfere *per se* ou se atua de modo indireto proporcionando resistência viral. Os mecanismos fisiopatológicos de resistência ao interferon induzida pela RI não estão ainda completamente elucidados. A existência de processo inflamatório e infiltração macrófagica ao nível do tecido adiposo ocasiona o aumento de citocinas circulantes, em particular, da interleucina 6 (IL6). Isto provocaria um aumento do SOCS (*Supressor of cytokines Signaling*), sobretudo do SOCS 3, responsável por determinar resistência à insulina e inibir o efeito terapêutico do Interferon ao nível das vias intracelulares (*janus kinase 1*) JAK 1 e (*signal transducer and activator of transcription*) STAT 1 e 2, o que poderia justificar uma menor resposta ao tratamento antiviral (74, 75).

A associação entre resistência insulínica e hepatite crônica C é de reconhecimento relativamente recente e a maioria dos estudos já publicados foi realizado na América do Norte e Europa. No Brasil, cuja população é distinta do ponto visto étnico e genético, não há trabalhos que tenham determinado a prevalência da

resistência insulínica em portadores de hepatite crônica C, nem tampouco as suas conseqüências. Devido a isto, foi proposto a realização deste estudo, visando obter melhor conhecimento desta intrigante relação e trazer subsídios para a implementação de estratégias que possam contribuir para um melhor conhecimento da história natural da hepatite crônica C e melhorar as taxas de resposta ao tratamento antiviral na população brasileira.

2 OBJETIVOS

Em portadores de hepatite crônica C, virgens de tratamento e não diabéticos determinar:

- A prevalência da resistência insulínica.
- Os fatores associados ao surgimento da resistência insulínica.
- O impacto da resistência insulínica sobre os parâmetros laboratoriais e histológicos da infecção crônica pelo vírus da hepatite C.

3 CASUÍSTICA E MÉTODO

3.1 Desenho do estudo

Estudo observacional e transversal com inclusão prospectiva dos dados. Os pacientes foram incluídos no estudo após aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

3.2 Casuística

Portadores de hepatite crônica C (RNA-HCV positivo), não diabéticos, atendidos no Centro de Referência em Hepatites do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (HU-UFJF) no período de janeiro de 2009 a agosto de 2010, que concordaram em participar do protocolo de avaliação e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Foram excluídos do estudo pacientes com antígeno de superfície do Vírus da Hepatite B (HBsAg) positivo, infecção pelo vírus da Imunodeficiência Humana (HIV I e II), doença renal crônica (creatinina sérica superior a 1.5 mg/dL), portadores de diabetes mellitus 1 e 2, cirrose hepática descompensada e consumo de etanol superior a 20 gramas de etanol/dia (mulheres) e 40 gramas/dia (homens) no último ano, assim como os pacientes submetidos a tratamento antiviral prévio para a hepatite crônica C,

3.3 Método

Os pacientes incluídos no estudo após observância dos critérios de inclusão e exclusão foram submetidos à avaliação clínica (anamnese e exame físico) e coleta de amostras de sangue para a realização de exames laboratoriais. Todos os pacientes com RNA-HCV qualitativo sérico positivo submeteram-se à biópsia hepática, exceto os que apresentavam alguma contra-indicação à realização da mesma (RNI > 1,5 e contagem de plaquetas inferior a 50.000 células/mm³) Pacientes com evidências clínicas de cirrose hepática caracterizados pela presença de estigmas de insuficiência hepática, antecedentes de ascite, hemorragia digestiva alta, encefalopatia hepática, dados laboratoriais (coagulopatia, hipoalbuminemia), de imagem (demonstrando sinais de doença parenquimatosa crônica do fígado) e endoscopia digestiva alta revelando varizes esofágicas, foram considerados como tendo F4 (grau de fibrose 4), caso a biópsia não tenha sido realizada.

As seguintes variáveis foram analisadas:

3.3.1 Variáveis Demográficas, epidemiológicas e antropométricas

O sexo, a idade no ano de realização da biópsia hepática e o modo de aquisição da infecção, se por transfusão de sangue (antes de 1993), ou pelo uso de drogas intravenosas, ou ainda, por contato sexual, por tatuagens, acupunturas e cirurgias. Pacientes sem fator de risco identificável foram considerados como tendo causa indeterminada. O consumo de etanol (quantificado em gramas/dia), a pressão arterial (mmHg), o peso (kg), a altura (cm), o índice de massa corpórea (IMC= peso dividido pela altura ao quadrado) e a circunferência abdominal (cm) também foram registrados.

3.3.2 Variáveis Laboratoriais

Foram obtidas amostras de sangue para avaliação hematológica e bioquímica, em até três meses antes ou depois da realização da biópsia hepática. Os pacientes foram instruídos a manter jejum de doze horas para coleta de sangue. As análises bioquímicas e hematológicas foram realizadas no laboratório central do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (Unidade Santa Catarina). Os níveis de insulina de jejum, o HOMA-IR e a dosagem da proteína C reativa ultrasensível foram executados no laboratório Cortes Villela (Juiz de Fora). Os exames de biologia molecular (RNA-HCV qualitativo, RNA-HCV quantitativo, genótipo do VHC) foram determinados no laboratório NUPAD (núcleo de apoio ao diagnóstico) da Universidade Federal de Minas Gerais.

Testes Bioquímicos:

- Bilirrubina total e frações.
- Atividade de protrombina (anormal se inferior a 70%) e a relação normatizada internacional (RNI) que será considerada anormal se superior a 1.4.
- Albumina: será considerada anormal se inferior a 3,5 g/dL.
- Triglicérides
- Colesterol total e frações
- Glicemia de jejum
- Insulina de jejum
- Ferritina sérica
- Proteína C reativa ultra-sensível
- Índice de resistência insulínica (HOMA-IR) calculado da seguinte forma: glicemia de jejum (mmol/L) X insulina de jejum (mil/L) / 22.5).

Testes sorológicos e moleculares da hepatite C:

- Determinação do anticorpo anti-HCV realizado por teste de imunoensaio (ELISA) de terceira geração;
- RNA-HCV qualitativo e quantitativo realizada pela técnica de transcrição reversa – reação em cadeia da polimerase. Foi considerada elevada a carga viral do vírus da hepatite C superior a 400.000 UI.
- Genótipo do VHC através da técnica da reação em cadeia da polimerase – sequenciamento do ácido ribonucléico. Para a análise estatística, os genótipos foram divididos em 1 e não 1 (2 e 3).

3.3.3 Variáveis histológicas

A biópsia hepática foi indicada em todos os pacientes com RNA-HCV detectável no soro, independente do nível de aminotransferases. Foram consideradas contra-indicações para a realização da mesma: atividade de protrombina < 50%, plaquetas < 50.000/mm³ e níveis de hemoglobina inferiores a 9g/dL. As biópsias hepáticas foram realizadas por profissional experiente, utilizando-se agulha de Tru-Cut. As amostras obtidas foram fixadas em solução de formol a10%. Todas as lâminas de biópsia hepática foram analisadas pelo mesmo patologista, experiente em patologia hepática e não conhecedor dos dados clínicos do paciente. Mediante a obtenção de fragmentos adequados (pelo menos 10 espaços-porta) de tecido hepático, foi realizada a análise semi-quantitativa do grau de fibrose e atividade inflamatória periportal baseada na classificação de *METAVIR* (76).

Grau de fibrose hepática (estadiamento) foi classificado da seguinte forma:

F0. Ausência de fibrose;

F1. Fibrose periportal sem septos;

F2. Fibrose periportal e raros septos;

F3. Fibrose periportal e numerosos septos sem cirrose;

F4. Cirrose.

A atividade inflamatória periportal/perisseptal (APP) foi classificada da seguinte forma:

A0. Atividade inflamatória ausente;

A1. Atividade inflamatória leve;

A2. Atividade inflamatória moderada

A3. Atividade inflamatória intensa

Para a análise dos dados, a atividade inflamatória periportal (APP) foi categorizada em: graus menos intensos (graus 0 e 1) e mais intensos (graus 2 a 3) e a fibrose em estágio inicial (graus 0 e 1) e avançado (graus 2 a 4). Os pacientes com contra-indicação à realização da biópsia hepática, mas com evidências clínicas, laboratoriais, de imagem ou endoscópicas compatíveis com cirrose hepática foram assim considerados (F4). Nestes pacientes não será possível a determinação da APP.

Com relação à análise histológica verificou-se ainda a presença ou não de esteatose hepática (EH) (qualitativa) e a intensidade da esteatose (quantitativa) que foi classificada de acordo com critérios de Brunt *et al.* (2001) em: grau 0 < 5 %; grau 1: 5 a 33%; grau 2: 33 a 66%; grau 3 = superior a 66% (77).

3.3.4 Diagnóstico de síndrome metabólica

O diagnóstico de síndrome metabólica foi estabelecido conforme os critérios estabelecidos pela *International Federation of Diabetes (IDF)* e *American Heart Association (AHA)* e *National Heart, Lung and Blood Institute*: pressão arterial sistêmica

(PAS) maior que 130 x 85 mmHg; lipoproteína de alta densidade (HDL) colesterol menor que 40 mg/dl para homens e menor que 50 mg/dl para mulheres; triglicérides maior que 150 mg/dL; glicemia de jejum superior a 100 mg/dL; circunferência abdominal maior que 90 centímetros em homens e maior que 80 centímetros em mulheres (níveis recomendados para a população da América do Sul e Central segundo a IDF) (32) . Foram considerados portadores de SM aqueles que apresentaram três ou mais dos critérios acima mencionados.

3.3.5. Diagnóstico de resistência insulínica

Foi considerado portador de resistência insulínica aquele indivíduo com HOMA-IR igual ou superior a 2,5. Para a análise estatística dois grupos foram formados. Portadores de hepatite crônica C com HOMA-IR < 2,5 e portadores de hepatite crônica C com HOMA-IR \geq 2,5.

3.4 Análise Estatística

Para a análise estatística, utilizou-se o programa SPSS versão 15.0 para Windows (SPSS Chicago IL USA). As variáveis numéricas foram expressas por média, desvio padrão e mediana, quando adequado. As variáveis categóricas expressas como frequência absoluta (n) e relativa (%). Na análise estatística de variáveis categóricas, aplicamos os testes de Qui-quadrado e exato de Fisher, quando necessário. Para comparação de variáveis numéricas entre dois grupos foram utilizados os testes “t” de Student e o de Mann-Whitney. Foi adotado o nível de significância de 0,05 ($\alpha = 5\%$). Níveis descritivos iguais ou inferiores a esse valor foram considerados significantes.

4 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo permitiram as seguintes conclusões:

1. Em portadores de hepatite crônica C não diabéticos, a resistência insulínica, definida pela presença de HOMA-IR superior a 2,5, é frequente e esteve presente em mais de um quarto do total dos pacientes estudados.
2. A resistência insulínica foi associada com idade, circunferência abdominal e índice de massa corpórea. Fatores ligados ao vírus, como a carga viral e o genótipo, não se associaram com resistência insulínica.
3. A presença de resistência insulínica foi associada a graus mais avançados de fibrose hepática e à maior atividade inflamatória, laboratorial e histológica, quando comparados com os pacientes sem resistência insulínica. Observou-se ainda que a presença de esteatose hepática é mais prevalente em indivíduos com resistência insulínica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Perz JF, Armstrong GL, Farrington LA, Hutin YJ, Bell BP. The contributions of hepatitis B virus and hepatitis C virus infections to cirrhosis and primary liver cancer worldwide: **J Hepatol**. 2006 Oct;45(4):529-38.
2. Wise M, Bialek S, Finelli L, Bell BP, Sorvillo F. Changing trends in hepatitis C-related mortality in the United States, 1995-2004: **Hepatology**. 2008 Apr;47(4):1128-35.
3. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C virus infection: **World J Gastroenterol**. 2007 May 7;13(17):2436-41.
4. Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: **Lancet Infect Dis**. 2005 Sep;5(9):558-67.
5. Wasley A, Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends: **Semin Liver Dis**. 2000;20(1):1-16.
6. Global surveillance and control of hepatitis C. Report of a WHO Consultation organized in collaboration with the Viral Hepatitis Prevention Board, Antwerp, Belgium: **J Viral Hepat**. 1999 Jan;6(1):35-47.
7. Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, McQuillan GM, Kuhnert WL, Alter MJ. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002: **Ann Intern Med**. 2006 May 16;144(10):705-14.
8. Brandao AB, Fuchs SC. Risk factors for hepatitis C virus infection among blood donors in southern Brazil: a case-control study: **BMC Gastroenterol**. 2002 Aug 8;2:18.
9. Focaccia R, da Conceicao OJ, Sette H, Jr., Sabino E, Bassit L, Nitrini DR, et al. Estimated Prevalence of Viral Hepatitis in the General Population of the Municipality of Sao Paulo, Measured by a Serologic Survey of a Stratified, Randomized and Residence-Based Population: **Braz J Infect Dis**. 1998 Dec;2(6):269-84.
10. Simmonds P, Alberti A, Alter HJ, Bonino F, Bradley DW, Brechot C, et al. A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotypes: **Hepatology**. 1994 May;19(5):1321-4.
11. Penin F, Dubuisson J, Rey FA, Moradpour D, Pawlotsky JM. Structural biology of hepatitis C virus: **Hepatology**. 2004 Jan;39(1):5-19.

12. Simmonds P. Variability of hepatitis C virus: **Hepatology**. 1995 Feb;21(2):570-83.
13. Martins T, Narciso-Schiavon JL, Schiavon Lde L. [Epidemiology of hepatitis C virus infection]: **Rev Assoc Med Bras**. Jan-Feb;57(1):107-12.
14. Alter HJ, Purcell RH, Shih JW, Melpolder JC, Houghton M, Choo QL, et al. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis: **N Engl J Med**. 1989 Nov 30;321(22):1494-500.
15. Alter HJ, Houghton M. Clinical Medical Research Award. Hepatitis C virus and eliminating post-transfusion hepatitis: **Nat Med**. 2000 Oct;6(10):1082-6.
16. Alter MJ. Prevention of spread of hepatitis C: **Hepatology**. 2002 Nov;36(5 Suppl 1):S93-8.
17. Vandelli C, Renzo F, Romano L, Tisminetzky S, De Palma M, Stroffolini T, et al. Lack of evidence of sexual transmission of hepatitis C among monogamous couples: results of a 10-year prospective follow-up study: **Am J Gastroenterol**. 2004 May;99(5):855-9.
18. Gibb DM, Goodall RL, Dunn DT, Healy M, Neave P, Cafferkey M, et al. Mother-to-child transmission of hepatitis C virus: evidence for preventable peripartum transmission: **Lancet**. 2000 Sep 9;356(9233):904-7.
19. Conte D, Fraquelli M, Prati D, Colucci A, Minola E. Prevalence and clinical course of chronic hepatitis C virus (HCV) infection and rate of HCV vertical transmission in a cohort of 15,250 pregnant women: **Hepatology**. 2000 Mar;31(3):751-5.
20. Blackard JT, Shata MT, Shire NJ, Sherman KE. Acute hepatitis C virus infection: a chronic problem: **Hepatology**. 2008 Jan;47(1):321-31.
21. Orland JR, Wright TL, Cooper S. Acute hepatitis C: **Hepatology**. 2001 Feb;33(2):321-7.
22. Pachiadakis I, Pollara G, Chain BM, Naoumov NV. Is hepatitis C virus infection of dendritic cells a mechanism facilitating viral persistence?: **Lancet Infect Dis**. 2005 May;5(5):296-304.
23. Alberti A, Vario A, Ferrari A, Pistis R. Review article: chronic hepatitis C--natural history and cofactors: **Aliment Pharmacol Ther**. 2005 Nov;22 Suppl 2:74-8.
24. Marcellin P, Asselah T, Boyer N. Fibrosis and disease progression in hepatitis C: **Hepatology**. 2002 Nov;36(5 Suppl 1):S47-56.

25. Poynard T, Ratziu V, Charlotte F, Goodman Z, McHutchison J, Albrecht J. Rates and risk factors of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis c: **J Hepatol**. 2001 May;34(5):730-9.
34. Silveira VM, Horta BL, Gigante DP, Azevedo Junior MR. Metabolic syndrome in the 1982 Pelotas cohort: effect of contemporary lifestyle and socioeconomic status: **Arq Bras Endocrinol Metabol**. 2010 Jun;54(4):390-7.
35. Cortez-Pinto H, Camilo ME, Baptista A, De Oliveira AG, De Moura MC. Non-alcoholic fatty liver: another feature of the metabolic syndrome?: **Clin Nutr**. 1999 Dec; 18(6):353-8.
36. Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM, Bianchi G, Bugianesi E, McCullough AJ, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance: **Am J Med**. 1999 Nov;107(5):450-5.
37. Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study: **Gastroenterology**. 2005 Jul;129(1):113-21.
38. Adams LA, Sanderson S, Lindor KD, Angulo P. The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies: **J Hepatol**. 2005 Jan;42(1):132-8.
39. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity: **Hepatology**. 2004 Dec;40(6):1387-95.
40. Hourigan LF, Macdonald GA, Purdie D, Whitehall VH, Shorthouse C, Clouston A, et al. Fibrosis in chronic hepatitis C correlates significantly with body mass index and steatosis: **Hepatology**. 1999 Apr;29(4):1215-9.
41. Adinolfi LE, Gambardella M, Andreana A, Tripodi MF, Utili R, Ruggiero G. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific HCV genotype and visceral obesity: **Hepatology**. 2001 Jun;33(6):1358-64
42. Wang CS, Wang ST, Yao WJ, Chang TT, Chou P. Hepatitis C virus infection and the development of type 2 diabetes in a community-based longitudinal study: **Am J Epidemiol**. 2007 Jul 15;166(2):196-203.
43. Bedossa P, Moucari R, Chelbi E, Asselah T, Paradis V, Vidaud M, et al. Evidence for a role of nonalcoholic steatohepatitis in hepatitis C: a prospective study: **Hepatology**. 2007 Aug;46(2):380-7.

44. Goodman ZD, Ishak KG. Histopathology of hepatitis C virus infection: **Semin Liver Dis.** 1995 Feb;15(1):70-81.
45. Sanyal AJ. Review article: non-alcoholic fatty liver disease and hepatitis C--risk factors and clinical implications: *Aliment Pharmacol Ther.* 2005 Nov;22 Suppl 2:48-51.
46. Bugianesi E, Marchesini G, Gentilcore E, Cua IH, Vanni E, Rizzetto M, et al. Fibrosis in genotype 3 chronic hepatitis C and nonalcoholic fatty liver disease: Role of insulin resistance and hepatic steatosis: **Hepatology.** 2006 Dec;44(6):1648-55.
47. Perlemuter G, Sabile A, Letteron P, Vona G, Topilco A, Chretien Y, et al. Hepatitis C virus core protein inhibits microsomal triglyceride transfer protein activity and very low density lipoprotein secretion: a model of viral-related steatosis: **FASEB J.** 2002 Feb;16(2):185-94.
48. Rubbia-Brandt L, Giostra E, Mentha G, Quadri R, Negro F. Expression of liver steatosis in hepatitis C virus infection and pattern of response to alpha-interferon: **J Hepatol.** 2001 Aug;35(2):307.
49. Castera L, Hezode C, Roudot-Thoraval F, Lonjon I, Zafrani ES, Pawlotsky JM, et al. Effect of antiviral treatment on evolution of liver steatosis in patients with chronic hepatitis C: indirect evidence of a role of hepatitis C virus genotype 3 in steatosis: **Gut.** 2004 Mar;53(3):420-4
50. Cheung O, Sanyal AJ. Hepatitis C infection and nonalcoholic fatty liver disease: **Clin Liver Dis.** 2008 Aug;12(3):573-85, viii-ix.
51. Sarti C, Gallagher J. The metabolic syndrome: prevalence, CHD risk, and treatment: **J Diabetes Complications.** 2006 Mar-Apr;20(2):121-32.
52. Moadab MH, Kelishadi R, Hashemipour M, Amini M, Poursafa P. The prevalence of impaired fasting glucose and type 2 diabetes in a population-based sample of overweight/obese children in the Middle East: **Pediatr Diabetes.** 2010 Mar;11(2):101-6.
53. LeRoith D. Beta-cell dysfunction and insulin resistance in type 2 diabetes: role of metabolic and genetic abnormalities: **Am J Med.** 2002 Oct 28;113 Suppl 6A:3S-11S.
54. Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB, et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity: **Diabetes Care.** 2000 Jan;23(1):57-63.
55. Geloneze B, Vasques AC, Stabe CF, Pareja JC, Rosado LE, Queiroz EC, et al. HOMA1-IR and HOMA2-IR indexes in identifying insulin resistance and metabolic syndrome: Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS): **Arq Bras Endocrinol Metabol.** 2009 Mar;53(2):281-7.

56. Hickman IJ, Macdonald GA. Impact of diabetes on the severity of liver disease: **Am J Med.** 2007 Oct;120(10):829-34.
57. Garcia-Compean D, Jaquez-Quintana JO, Gonzalez-Gonzalez JA, Maldonado-Garza H. Liver cirrhosis and diabetes: risk factors, pathophysiology, clinical implications and management: **World J Gastroenterol.** 2009 Jan 21;15(3):280-8.
58. Romero-Gomez M, Fernandez-Rodriguez CM, Andrade RJ, Diago M, Alonso S, Planas R, et al. Effect of sustained virological response to treatment on the incidence of abnormal glucose values in chronic hepatitis C: **J Hepatol.** 2008 May;48(5):721-7.
59. Simo R, Lecube A, Genesca J, Esteban JI, Hernandez C. Sustained virological response correlates with reduction in the incidence of glucose abnormalities in patients with chronic hepatitis C virus infection: **Diabetes Care.** 2006 Nov;29(11):2462-6.
60. Allison ME, Wreghitt T, Palmer CR, Alexander GJ. Evidence for a link between hepatitis C virus infection and diabetes mellitus in a cirrhotic population: **J Hepatol.** 1994 Dec;21(6):1135-9.
61. Simo R, Hernandez C, Genesca J, Jardi R, Mesa J. High prevalence of hepatitis C virus infection in diabetic patients: **Diabetes Care.** 1996 Sep;19(9):998-1000.
62. Mason AL, Lau JY, Hoang N, Qian K, Alexander GJ, Xu L, et al. Association of diabetes mellitus and chronic hepatitis C virus infection: **Hepatology.** 1999 Feb;29(2):328-33.
63. Mehta SH, Brancati FL, Sulkowski MS, Strathdee SA, Szklo M, Thomas DL. Prevalence of type 2 diabetes mellitus among persons with hepatitis C virus infection in the United States: **Ann Intern Med.** 2000 Oct 17;133(8):592-9.
64. Koike K. Hepatitis C as a metabolic disease: Implication for the pathogenesis of NASH: **Hepatol Res.** 2005 Oct;33(2):145-50.
65. Miyoshi H, Fujie H, Shintani Y, Tsutsumi T, Shinzawa S, Makuuchi M, et al. Hepatitis C virus core protein exerts an inhibitory effect on suppressor of cytokine signaling (SOCS)-1 gene expression: **J Hepatol.** 2005 Nov;43(5):757-63.
66. Serfaty L, Capeau J. Hepatitis C, insulin resistance and diabetes: clinical and pathogenic data: **Liver Int.** 2009 Mar;29 Suppl 2:13-25.
67. Leandro G, Mangia A, Hui J, Fabris P, Rubbia-Brandt L, Colloredo G, et al. Relationship between steatosis, inflammation, and fibrosis in chronic hepatitis C: a meta-analysis of individual patient data: **Gastroenterology.** 2006 May;130(6):1636-42.

68. Piche T, Vandebos F, Abakar-Mahamat A, Vanbiervliet G, Barjoan EM, Calle G, et al. The severity of liver fibrosis is associated with high leptin levels in chronic hepatitis C: **J Viral Hepat.** 2004 Jan;11(1):91-6.
69. Gao C, Yao SK. Diabetes mellitus: a "true" independent risk factor for hepatocellular carcinoma?: **Hepatobiliary Pancreat Dis Int.** 2009 Oct;8(5):465-73.
70. Poordad FF. Review article: the role of rapid virological response in determining treatment duration for chronic hepatitis C: **Aliment Pharmacol Ther.** Jun;31(12):1251-67.
71. Mangia A. Individualizing treatment duration in hepatitis C virus genotype 2/3-infected patients: **Liver Int.** 2011 Jan;31(1):36-41.
72. Lee SS, Ferenci P. Optimizing outcomes in patients with hepatitis C virus genotype 1 or 4: **Antivir Ther.** 2008;13 Suppl 1:9-16.
73. Romero-Gomez M, Del Mar Vilorio M, Andrade RJ, Salmeron J, Diago M, Fernandez-Rodriguez CM, et al. Insulin resistance impairs sustained response rate to peginterferon plus ribavirin in chronic hepatitis C patients: **Gastroenterology.** 2005 Mar;128(3):636-41
74. Persico M, Capasso M, Russo R, Persico E, Croce L, Tiribelli C, et al. Elevated expression and polymorphisms of SOCS3 influence patient response to antiviral therapy in chronic hepatitis C: **Gut.** 2008 Apr;57(4):507-15.
75. Persico M, Capasso M, Persico E, Svelto M, Russo R, Spano D, et al. Suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS3) expression and hepatitis C virus-related chronic hepatitis: Insulin resistance and response to antiviral therapy: **Hepatology.** 2007 Oct;46(4):1009-15.
76. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group: **Hepatology.** 1996 Aug;24(2):289-93.
77. Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis: definition and pathology: **Semin Liver Dis.** 2001;21(1):3-16.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Questionário

Nome: _____ Idade: _____ Sexo: ()M ()F GF: _____

Infecção: ()HCV Tempo infecção HCV: _____ forma contaminação _____

Peso: _____ Altura: _____ IMC: _____ CA _____

Consumo de álcool: ()sim ()não Quantidade/tempo: _____

Critérios para diagnóstico de síndrome metabólica:

Parâmetro	Data	Data
Pressão arterial sistêmica		
HDL colesterol		
Triglicérides		
Glicemia de jejum		
C. abdominal		

Características laboratoriais:

Parâmetro	Data	Data
Triglicérides		
Colesterol Total		
HDL		
LDL		
Glicemia de jejum		
ALT		
AST		
GGT		
AP		
Albumina		
Carga viral do HCV		
Genótipo do HCV		
PCR		
Ferritina		
HOMA-IR		

Parâmetros histológicos:

Data de biópsia hepática: _____

APP	
Fibrose	
Esteatose	

APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Departamento de Clínica Médica Serviço de Gastroenterologia

Pesquisador Responsável: Aécio Flávio Meirelles de Souza

Endereço: Avenida Barão do Rio Branco, 2679 sala 605

CEP: 36010012– Juiz de Fora – MG

Fone: (32) 32158200

E-mail: aecio.meirelles@gmail.com

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Senhor (a) está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa “*Prevalência e impacto da Síndrome metabólica em portadores de Hepatite C crônica*”. Neste estudo pretendemos verificar a *freqüência de síndrome metabólica (obesidade, alteração dos níveis de colesterol, triglicérides e glicose) em pacientes com hepatite C crônica e analisar as conseqüências destas alterações sobre a sua hepatite*. O motivo que nos leva a estudar esse assunto é indivíduos com hepatite C crônica tem mais frequentemente síndrome metabólica associada e parece que esta pode intensificar as alterações do vírus da hepatite C sobre o fígado. Para este estudo verificaremos se você apresenta síndrome metabólica (verificação do peso, altura, circunferência abdominal e alterações da glicose, colesterol e triglicérides). Os pacientes considerados como tendo síndrome metabólica serão comparados com pacientes sem síndrome metabólica quanto às alterações laboratoriais e do tecido hepático. Os exames de sangue necessários para o estudo serão os habitualmente realizados para o acompanhamento de sua doença durante as visitas no ambulatório. Somente dois exames (insulina de jejum) serão realizados fora da sua rotina laboratorial. A coleta de sangue será realizada em uma das veias do antebraço, com material descartável, podendo causar desconforto semelhante a uma injeção na veia e em alguns casos deixar uma mancha roxa, que habitualmente melhora em algumas horas ou poucos dias. O tecido hepático (parte do fígado para análise) será obtido através da realização de biópsia hepática. Esta será realizada após sua assinatura de

termo de consentimento próprio para realização da biópsia hepática. Além disso, a biópsia hepática será realizada conforme a rotina do serviço caso haja necessidade para investigação da hepatite C. Para participar deste estudo você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Não há nenhuma previsão de ressarcimento de custos aos participantes do estudo uma vez que os pacientes incluídos no estudo não terão custo algum.

Você será esclarecido (a) sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido pelo pesquisador

O pesquisador irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo respeitando os princípios da confiabilidade e privacidade.

Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão.

O (A) Sr (a) não será identificado em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável, no Centro LOCAL DO ESTUDO e a outra será fornecida a você.

Não haverá riscos, se por ventura houver, será ressarcido pelo pesquisador responsável,

Eu, _____, portador do documento de Identidade _____ fui informado (a) dos objetivos do estudo "NOME DO ESTUDO", de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada à oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Juiz de Fora, _____ de _____ de 20 .

Nome	Assinatura participante	Data
------	-------------------------	------

Nome	Assinatura pesquisador	Data
------	------------------------	------

Nome	Assinatura testemunha	Data
------	-----------------------	------

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o

CEP HU - COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA HU/UFJF

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO UNIDADE SANTA CATARINA

PRÉDIO DA ADMINISTRAÇÃO SALA 27

CEP 36036-110

E-mail: cep.hu@ufjf.edu.br

APENDICE C- Artigo Original do Estudo**TÍTULO: INSULIN RESISTANCE IN NON-DIABETIC PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C: WHAT IS THE MEANING?**

TÍTULO: Resistência insulínica em portadores de hepatite crônica c não diabéticos: qual o significado?

Aécio Flávio Meirelles de Souza – Hepatology Reference Center of Gastroenterology Department, Federal University of Juiz de Fora

Fábio Heleno de Lima Pace – Hepatology Reference Center of Gastroenterology Department, Federal University of Juiz de Fora

Júlio Maria Fonseca Chebli – Hepatology Reference Center of Gastroenterology Department, Federal University of Juiz de Fora

Lincoln Eduardo Villela Vieira de Castro Ferreira – Director of Digestive Endoscopy Unit of University Hospital of Federal University of Juiz de Fora

Correspondence to:

Aécio Flávio Meirelles de Souza

Rua Albino Martins Ribeiro 324. Bosque imperial

36.036-474 Juiz de Fora – Minas Gerais – Brazil

aecio.meirelles@gmail.com

RESUMO

Objetivos: Em portadores de hepatite crônica C não diabéticos, verificar a prevalência de resistência insulínica (RI) e analisar a associação da mesma com os parâmetros laboratoriais e histológicos. **Sujeitos e métodos:** foram incluídos no estudo 82 pacientes e amostras de sangue foram coletadas para determinação de glicose, perfil lipídico, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), ferritina, HOMA-IR, carga viral e genótipo do VHC. HOMA-IR superior a 2,5 foi considerado resistência insulínica. **Resultados:** RI foi observada em 27% dos pacientes e foi associada a idade, circunferência abdominal e índice de massa corpórea. Quando comparado a pacientes sem RI, aqueles com HOMA-IR superior a 2,5 apresentaram graus mais acentuados de fibrose hepática e atividade necro-inflamatória, maiores níveis de aminotransferases e esteatose hepática mais freqüente. **Conclusões:** É comum a presença de RI em portadores de hepatite crônica C e esta se associa com graus mais avançados de fibrose hepática induzida pelo vírus da hepatite C.

DESCRITORES: Hepatite crônica C, fibrose hepática, resistência insulínica, HOMA-IR.

ABSTRACT:

Objectives: To determine the prevalence of insulin resistance (IR) in non-diabetic patients with chronic hepatitis C and to verify the association of IR with laboratory parameters and histology. **Subjects and methods:** Eighty-two patients had serum analyzed for glucose, lipid profile, C-reactive protein (CRP), ferritin, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), HOMA-IR, viral load and HCV genotype. Patients with HOMA-IR levels >2.5 were considered to have insulin resistance. Results: IR was observed in 27% of patients and was associated with age, waist circumference and body mass index. IR were more likely to have more advanced hepatic fibrosis and necroinflammatory activity, higher levels of aminotransferases and liver steatosis than patients without IR. **Conclusions:** Insulin resistance is often present in patients with chronic hepatitis C and this is associated with more advanced HCV-related hepatic fibrosis.

KEYWORDS: Chronic hepatitis C, liver fibrosis, insulin resistance; HOMA-IR.

I. INTRODUCTION

Chronic hepatitis C virus (HCV) infection is the main cause of death due to liver disease worldwide, being one of the main reasons for liver transplantation. Recent estimates indicate that 2.2% of the world population (130 million people) are infected with HCV (1). Data from the Brazilian Hepatology Society derived from Brazilian blood donors have shown the prevalence rate of HCV infection to be 1.1% and with higher rates in the North and lower rates in the South. (2)

Acute infection with HCV is most often asymptomatic; 50-85% of these patients ultimately develop chronic hepatitis (3) and 20-30% of HCV patients developed cirrhosis after 20-30 years of disease (4). In a recent study, John-Baptiste *et al.*, reported that 14.8% of individuals who acquired HCV infection through intravenous drug use developed cirrhosis 20 years after being infected (5). The rate of progression to cirrhosis is the most important factor in the natural history of HCV infection. Once cirrhosis develops, complications due to portal hypertension account for HCV-related morbidity and mortality. Since most patients with HCV-related chronic hepatitis do not develop cirrhosis, it is logical to infer that host-related and virus-related factors must play a role in the progression to cirrhosis. In a landmark study from 2001 study by Poynard *et al.*, host-related variables, such as male sex, age at the time of infection and excessive alcohol intake were independently associated with progression of HCV-induced liver fibrosis (6). In recent years, other factors, such as co-infection with the human immunodeficiency virus (HIV), insulin resistance (IR) and hepatic steatosis, have also been linked to progression of hepatic fibrosis (7-10). In 2003 Hui *et al.*, studied 260 patients with HCV-related chronic hepatitis and found that the Homeostasis Model

Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR), a marker of insulin resistance (IR), was independently associated with advanced fibrosis (8).

IR has been increasingly recognized and its association with the metabolic syndrome (MS) – characterized by central obesity, dyslipidemia, abnormalities in glycemic control and arterial hypertension (11) – are well established, and probably represent the main pathogenetic mechanism. The MS has been increasingly recognized in the hepatology literature. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is one of the most common liver diseases in the western world and considered the hepatic manifestation of the MS, is, and linked to the development of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma (12). Because insulin primarily facilitates glucose uptake by muscle, liver, and adipose tissue, IR is felt to be due to decreased responsiveness of these tissues to physiological amounts of circulating plasma insulin (13). This may be due to genetic predisposition or acquired metabolic disorders, chiefly visceral obesity (14).

Patients with chronic liver disease and cirrhosis in particular are known to be prone to IR. However, chronic HCV infection may induce IR, regardless of the presence of liver cirrhosis. Hui *et al.* demonstrated that patients with chronic HCV hepatitis without liver fibrosis had increased levels of insulin, HOMA-IR and peptide C compared with metabolically matched healthy individuals (8). Two other studies have indirectly demonstrated the cause-effect relationship between chronic HCV infection and IR. Patients with HCV-related hepatitis who had sustained virologic responses after antiviral therapy were less likely to develop type 2 diabetes mellitus (DM2) and glycemic alterations, compared to non-responders (15,16). Although the mechanisms underlying the development of IR in patients with HCV chronic infection have not been fully elucidated, the following factors have been recently considered: changes to insulin

signaling pathways due to viral proteins; chronic inflammation with overproduction of tumor necrosis factor (TNF) and consequent phosphorylation of ISR-1 serine residues, lower expression of the genes related to glucose metabolism, and degradation of insulin receptor substrates (17).

Besides having higher rates of liver fibrosis progression, patients with chronic HCV hepatitis with IR are less likely to respond to antiviral therapy (9,18,19,20). In Brazil, no studies have determined the rate of IR in chronically HCV-infected populations or the consequence of such association. We then aimed to assess the prevalence rate of IR in an HCV-infected population, and the results of this association on the laboratory and histological parameters of chronic HCV-related hepatitis. Greater knowledge about this intriguing relationship and its impact may provide investigators to adopt strategies to alter the natural history of chronic HCV hepatitis and improve the results of antiviral therapy.

II. METHODS

This was an observational and cross-sectional study, with prospective inclusion of data. After approval of the study by the Committee of Research Ethics of the Federal University of Juiz de Fora Teaching Hospital (HU-UFJF), informed consent was obtained and patients were included in the study. Patients with chronic HCV hepatitis seen at the HU-UFJF Hepatology Reference Center were consecutively enrolled, during the period January 2010 through June 2011. Eligibility required chronic HCV infection documented by positivity of qualitative HCV-RNA. Exclusion criteria included: previous antiviral treatment, co-infection with hepatitis B virus (HBV) or human immunodeficiency virus (HIV I and II), chronic renal disease, type 2 DM2, decompensated liver cirrhosis, hepatocellular carcinoma, and average alcohol intake greater than 20g ethanol/day (women) and 40g ethanol/day (men) during the preceding year. Enrolled patients underwent clinical assessment (history and physical examination) and had blood samples drawn. The following demographic, epidemiologic and clinical data were recorded on enrollment: gender, age at the time of liver biopsy, cause of HCV (blood transfusion, intravenous drug use, sexual intercourse, indeterminate and others, such as inhaled drugs, acupuncture or surgery), blood pressure, weight, height, body mass index (BMI) and abdominal circumference. Abbott reagents were used with respective methods: serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), albumin and fasting glucose (kinetic method). Cholesterol and triglycerides (colorimetric method). For determination of HDL cholesterol (HDL-c), DiaSys reagent and precipitation methodology were employed and for LDL cholesterol (LDL-c) the Friedwald formula was employed. The international normalized

ratio of prothrombin time (INR) was determined with ISI and PT-Fib recombinant reagent and processed in an ACL 3000 apparatus with factory ISI. Ferritin was measured using the DiaSys reagent and employing chemiluminescent *microparticle immunoassay* methodology (CMIA). Ultra-sensitive C-reactive protein (CRP) was determined with iimmunoturbidimetry. Hepatitis C viral load was determined using real-time polymerase chain reaction (Abbott HCV Real Time) and HCV genotyping (Reverse transcription - polymerase chain reaction / nucleic acid sequencing). Serum insulin levels were determined using the microparticle enzyme immunoassay (MEIA), Abbott AxSYM system. The degree of IR was assessed using HOMA-IR (Homeostasis model assessment of insulin resistance), calculated as $\text{fasting blood glucose [mmol/l]} \times \text{fasting blood insulin [mil/L]} / 22.5$. IR was defined when the HOMA-IR was > 2.5 . Biochemical analyses were performed at the HU-UFJF Central Laboratory; fasting insulin, HOMA-IR and ultra-sensitive CRP were performed at the Cortes Villela Laboratory – Juiz de Fora – MG; molecular biology assays (qualitative HCV-RNA, quantitative HCV-RNA, HCV genotyping) were performed at the Federal University of Minas Gerais NUPAD Laboratory. Histopathologic assessment included: stage of fibrosis and periportal necroinflammatory activity according to the *Metavir* histological score (21), and the presence of steatosis, quantified as follows: up to 5%, 5% to 33%, 33% to 66% and over 66%, according to Brunt (22). Patients with any contra-indication to undergo liver biopsy, but with clinical, laboratory and imaging evidence of liver cirrhosis (stage 4 fibrosis) were included. All liver biopsies were analyzed by a single pathologist with experience in liver pathology and blinded to the patient's clinical data.

The MS was diagnosed according to the International Federation of Diabetes (IDF) and American Heart Association (AHA) and National Heart, Lung and Blood

Institute criteria (23). According to the latter, the MS was diagnosed by the presence of at least three of the following: systemic arterial blood pressure (BP) > 130 x 85 mmHg, high-density lipoprotein (HDL) cholesterol < 40 mg/dL (men) and < 50 mg/dL (women), triglycerides > 150 mg/dL, fasting blood glucose > 100 mg/dL, abdominal circumference > 90 cm (men) and > 80 cm (women) (levels recommended by South and Central America populations by the International Diabetes Federation). For analysis of the results patients were allocated to two groups: Group I – patients with chronic HCV hepatitis without IR, and Group II – patients with chronic HCV hepatitis with IR.

Statistical analysis: The SPSS program (15.0 version for Windows) was used. Numerical variables were expressed as mean \pm standard deviation and median, when appropriate. Categorical variables were expressed as absolute (n) and relative (%) frequencies. For statistical analysis of the categorical variables, chi-squared and Fisher's exact tests were used. For comparison of the numerical variables between the two groups, Student's "t" and Mann-Whitney tests were used. P values less than 0.05 ($\alpha=5\%$) significance level was adopted.

III. RESULTS

82 patients (mean age 51 years), being 42 (51%) men and 40 (49%) women, were included in the study. IR and obesity were observed in 22 (27%) and 15 (18%), respectively (Table 1). Patients with chronic HCV hepatitis and IR had higher mean age (56.9 ± 10.1 vs. 49.7 ± 12.3 ; $p = 0.03$), larger abdominal circumference (97.8 ± 11.9 vs. 87.1 ± 11.1 ; $p = 0.04$) and higher BMI (28.1 ± 4.4 vs. 25.4 ± 4.1 ; $p = 0.01$) compared with individuals without IR (Tables 1 and 2), Gender, obesity, and systemic arterial hypertension were similar in between those patients with and without IR. The MS was present in 24 (29%) patients; 41% in the IR group versus 25% without IR, although the difference was not statistically significant (Table 1).

Patients with chronic HCV hepatitis and IR had higher levels of blood glucose ($p = 0.004$), fasting insulin ($p < 0.0001$) and HOMA-IR ($p < 0.0001$), compared with patients without IR. Levels of ALT ($p = 0.03$), AST ($p < 0.0001$), GGT ($p = 0.03$) and INR ($p = 0.02$) were significantly higher and albumin levels were significantly lower ($p = 0.003$) in patients with chronic HCV hepatitis and IR (Table 3). There was no association between IR, viral load and HCV genotype. Of the 82 patients included in the study, only 2 did not undergo liver biopsy because of coagulopathy. They were considered F4 (grade 4 fibrosis) as mentioned in the inclusion criteria. Thus 29 (36%) patients had liver fibrosis ≥ 2 , 9 with liver cirrhosis (F4). Patients with IR were more likely to have steatosis ($p = 0.001$) and higher grades of fibrosis ($p = 0.005$) and periportal necroinflammatory activity ($p = 0.04$). Furthermore, patients with IR had higher rates of advanced liver fibrosis (fibrosis ≥ 2) ($p = 0.007$) and a tendency towards higher rates of periportal necroinflammatory activity ≥ 2 ($p = 0.08$) (table 4)

IV. DISCUSSION

Epidemiologic studies support an association between chronic HCV hepatitis and type DM2, with the primary predisposing factor being insulin resistant (IR) (24-27). According to Mehta *et al.* (2000), subjects more than 40 years of age with anti-HCV antibodies have a 3.77 fold higher risk of developing DM2, compared with those matched for gender, BMI and ethnicity who were anti-HCV negative (27). Although liver cirrhosis (regardless of etiology) has been associated with the development of IR and DM2, chronic HCV infection is reported to be more strongly related to the development of IR when compared with chronic HBV hepatitis (26).

In our study, among the 82 analyzed patients, 22 (27%) had serum HOMA-IR levels greater than 2.5, which is consistent with a diagnosis of IR. There is no consensus on IR assessment and reference values among HCV carriers or even among subjects without liver disease. Serum HOMA-IR has been used as an indirect way to measure IR, and correlates well with insulin sensitivity per the euglycemic/hyperinsulinemic clamping technique (28,29). Cut-off points indicators of IR from these studies range from 1.5 to 3.0 (30-34). In a Brazilian study from 2009 Geloneze *et al* studied 1203 patients without diabetes and without HCV infection (35). They reported a HOMA-IR cut-off point of 2.7 for the diagnosis of IR, of, which is close to the level we used for our study. In 2008, Moucari *et al.*, used a HOMA-IR cut-off point of >3 for diagnosing IR and found a 32% rate of IR in 462 non-diabetic, HCV-positive patients (31).

In our study, IR was associated with age, abdominal circumference and BMI. It is known that age, obesity (particularly the centripetal variety), sedentary lifestyle and

genetic predisposition are the main causes of IR in the general population (36). Advanced age is associated with lower intracellular concentrations of glucose carriers. These are responsible for glucose entry, especially GLUT4, one of the main insulin-mediated glucose uptake regulators (36). Adipose tissue is no longer considered to be merely a lipid storage compartment, but an endocrine organ, which can secrete interleukin 6, leptin, adiponectin, insulin-like growth factor (IGF-1), and other substances that may alter insulin sensitivity (37).

In our sample, IR patients had higher levels of blood glucose, fasting insulin and HOMA-IR. Disordered glycemic metabolism is certainly the main consequence of IR, justifying the higher prevalence rates of DM2 in patients with chronic hepatitis C. The levels of total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and triglycerides were similar in both groups. The levels of ALT, AST and GGT were significantly higher in IR patients, which may reflect more severe inflammatory injury and the presence of steatosis. IR patients have a greater production of inflammatory cytokines, such as IL-6, resistin, TNF- α and CRP, which may promote inflammatory injury to the hepatocyte. Furthermore, adiponectin is a potent anti-inflammatory cytokine, IR patients typically have lower levels of this cytokine. In this study, we found a higher rate of liver steatosis in IR patients, which may also explain the higher levels of ALT and AST. Higher levels of GGT have been observed in subjects with hyperinsulinemia, central obesity and hypertension (38). The lower levels of albumin and the increased INR in our study likely represent the higher stage of liver fibrosis observed in this group, and the consequent impairment of liver synthetic activity.

We found a significantly higher rate of hepatic steatosis between patients with IR (74%) and those without IR (32%) which was statistically significant. IR and obesity are

likely to activate a cascade of events leading to excessive release of free fatty acids from the liver. When plasma uptake and “*de novo*” synthesis of free fatty acids overcome the hepatocyte ability to oxidize and export them as triglycerides, the latter accumulate in the liver parenchyma, causing steatosis (39). In this study, we observed that IR patients had higher grades of HCV-induced liver fibrosis, compared with subjects without IR. Several international studies have found similar results (8,10,31). Liver steatosis may have contributed to this finding. Steatosis could facilitate the development of liver fibrosis through generation of oxidative stress resulting from the build-up of lipids in the hepatocyte, which leads to a greater secretion of inflammatory cytokines, formation of oxygen reactive species and activation of liver stellate cells, fundamental to the initiation of liver fibrogenesis (40,41). In this study, the mean necroinflammatory activity was higher in the IR patients. Again, liver steatosis may account for this finding.

In conclusion, this study demonstrated that 27% of non-diabetic, HCV-positive patients who were treatment naive, had insulin resistance as defined by serum HOMA-IR levels > 2.5 , and was associated with age, BMI and abdominal circumference. We believe this to be the first Brazilian study to demonstrate that IR in chronic hepatitis C patients is associated with higher inflammatory activity (biochemical and histological), advanced liver fibrosis and liver steatosis. Our data corroborates that already published for European and North American populations. IR, a potentially modifiable host-related factor, accelerates liver fibrogenesis. Future studies are needed in which metabolic parameters (IR) in HCV-positive patients are normalized to assess whether this strategy can reduce HCV-induced histological injury

Disclosure: no potential conflict of interest relevant to this article was reported

REFERENCES

1. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *World Journal Gastroenterol.* 2007; 13 (17): 2436-41.
2. Fonseca J. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite C no Brasil. Relatório do Grupo de Estudo da Sociedade Brasileira de Hepatologia. *GED. Gastroenterologia Endoscopia Digestiva.* 1999; 18 (suppl 1): S3-S8.
3. Thomas DL, Astemborski J, Rai RM, Anania FA, Schaeffer M, Galai N, et al. The natural history of hepatitis C virus infection: host, viral, and environmental factors. *Jama.* 2000;284 (4):450-6.
4. Alberti A, Vario A, Ferrari A, Pistis R. Review article: chronic hepatitis C – natural history and cofactors. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005; 22 (Suppl. 2): 74-8.
5. John-Baptiste A, Krahn M, Heathcote J, Laporte A, Tomlinson G. The natural history of hepatitis C infection acquired through injection drug use: meta-analysis and meta-regression. *J Hepatol.* 2010; 53 (2): 245-51.
6. Poynard T, Ratziu V, Charlotte F, Goodman Z, McHutchison J, Albrecht J. Rates and risk factors of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2001; 34: 730-9.
7. Benhamou Y, Bochet M, Di Martino V, Charlotte F, Azria F, Coutellier A, et al. Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfecting patients. The Multivirc Group. *Hepatology.* 1999; 30(4):1054-8.
8. Hui JM, Sud A, Farrell GC, Bandara P, Byth K, Kench JG et al. Insulin resistance is associated with chronic hepatitis C virus infection and fibrosis progression. *Gastroenterology.* 2003; 125: 1695–1704.

9. Sanyal AJ. Role of insulin resistance and hepatic steatosis in the progression of fibrosis and response to treatment in hepatitis C. *Liver Int.* 2011; 31 S1:23-8.
10. L Fartoux, A Poujol-Robert, J Gue´chot, D Wendum, R Poupon, L Serfaty. Insulin resistance is a cause of steatosis and fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Gut.* 2005;54:1003-08.
11. Alberti, K.G., Zimmet, P., Shaw, J. Metabolic syndrome – a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diab Med.* 2006;23:469-80.
12. Krawczyk M, Bonfrate L, Portincasa P. Nonalcoholic fatty liver disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2010;24(5):695-08.
13. Setsi G. Pathophysiology of insulin resistance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2006; 20(4):665-79.
14. LeRoith D. Beta cell dysfunction and insulin resistance in type 2 diabetes: role of metabolic and genetic abnormalities. *Am J Med.* 2002;113 (6A):3s–11s.
15. Romero Gómez M, Fernández-Rodríguez CM, Andrade RJ, Diago M, Alonso S, Planas R, et al. Effect of sustained virological response to treatment on the incidence of abnormal glucose values in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2008;48:721-7.
16. Simó R, Lecube A, Genescà J, Esteban JI, Hernández C. Sustained virological response correlates with reduction in the incidence of glucose abnormalities in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Diabetes Care.* 2006;29:2462-6.
17. López RA, Romero-Gómez M. La resistencia a la insulina en la hepatitis crónica C. *GH continuada.* 2010; 9(2):73-6.

18. Conjeevaram HS, Kleiner DE, Everhart JE, Hoofnagle JH, Zacks S, Afdhal NH, et al. Virahep-C Study Group. Race, insulin resistance and hepatic steatosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2007;45:80-7.
19. Dai CY, Huang JF, Hsieh MY, Hou NJ, Lin ZY, Chen SC, et al. Insulin resistance predicts response to peginterferon-alpha/ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C patients. *J Hepatol*. 2009;50:712-8.
20. Chu CJ, Lee SD, Hung TH, Lin HC, Hwang SJ, Lee FY, et al. Insulin resistance is a major determinant of sustained virological response in genotype 1 chronic hepatitis C patients receiving peginterferon alpha-2b plus ribavirin. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009;29:46-54.
21. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology*. 1996;24(2):289-93.
22. Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis: definition and pathology. *Semin Liver Dis*. 2001;21(1):3-16.
23. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA et al. Harmonizing the Metabolic Syndrome A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009; 120(16): 1640-5.
24. Simo R, Hernandez C, Genesca J, Jardí R, Mesa J. High prevalence of hepatitis C virus infection in diabetic patients. *Diabetes Care*. 1996;19:998-00.

25. Mason AL, Lau JY, Hoang N, et al. Association of diabetes mellitus and chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology*.1999;29:328-33.
26. Wang CS, Wang ST, Yao WJ, Chang TT, Chou P. Hepatitis C virus infection and the development of type 2 diabetes in a community-based longitudinal study. *Am J Epidemiol*. 2007;166:196-03.
27. Mehta SH, Brancati FL, Sulkowski MS, et al. Prevalence of type 2 diabetes mellitus among persons with hepatitis C virus infection in the United States. *Ann Intern Med*. 2000; 133:592-9.
28. Emoto M, Nishizawa Y, Maekawa K, Hiura Y, Kanda H, Kawagishi T et al. Homeostasis model assessment as a clinical index of insulin resistance in type 2 diabetic patients treated with sulfonylureas. *Diabetes Care*.1999; 22:818-22.
29. Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna R, Saggiani F, Zenere M, Monauni T et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. *Diabetes Care*. 2000;23:57-63.
30. Grasso A, Malfatti F, Leo P, Martines H, Fabris P, Toscanini F, et al. Insulin resistance predicts rapid virological response in non-diabetic, non-cirrhotic genotype 1 HCV patients treated with peginterferon alpha-2b plus ribavirin. *J Hepatol*. 2009;51:984-90.
31. Moucari R, Asselah T, Cazals-Hatem D, Voitot H, Boyer N, Ripault M-P, et al. Insulin resistance in chronic hepatitis C: association with genotypes 1 and 4, serum HCV RNA level, and liver fibrosis. *Gastroenterology*.2008;134:416-23

32. Romero-Gómez M, Del Mar Vilorio M, Andrade RJ, Salmerón J, Diago M, Fernández-Rodríguez CM, et al. Insulin resistance impairs sustained response rate to peginterferon plus ribavirin in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterology*. 2005;128:636-41.
33. Duseja A, Dhiman RK, Chawla Y, Thumberu KK, Kumar A, Das A, et al. Insulin resistance is common in patients with predominantly genotype 3 chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci*. 2009;54:1778-82.
34. Hsu C-S, Liu C-J, Liu C-H, Wang C-C, Chen C-L, Lai M-Y, et al. High hepatitis C viral load is associated with insulin resistance in patients with chronic hepatitis C. *Liver Int*. 2008;28:271-77.
35. Geloneze B, Pereira JA, Pareja JC, Lima MM, Lazarin MA, Souza IC et al. HOMA1-IR and HOMA2-IR indexes in identifying insulin resistance and metabolic syndrome: Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS): *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2009;53(2):293-00.
36. Armoni M, Harel C, Karnieli E. Transcriptional regulation of the GLUT4 gene: from PPAR-gamma and FOXO1 to FFA and inflammation. *Trends Endocrinol Metab* 2007;18(3):100-7.
37. Hutley L, Prins JB. Fat as an endocrine organ: relationship to the metabolic syndrome. *Am J Med Sci*. 2005;330(6):280-9.
38. Stranges S, Trevisan M, Dorn JM, Dmochowski J, Donahue RP. Body distribution, liver enzymes, and risk of hypertension: evidence from the Western New York Study. *Hypertension*. 2005;46(5):1186-93.

39. Negro F, Alaei M. Hepatitis C virus and type 2 diabetes. *World J Gastroenterol.* 2009;15:1537-47.

40. Asselah T, Rubbia-Brandt L, Marcellin P, et al. Steatosis in chronic hepatitis C: what does it really matter? *Gut.* 2006;55:123-30.

41. Jeffrey R. Lewis, Smruti R. Mohanty. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Review and Update. *Dig Dis Sci.* 2010;55:560-78.

TABLES

Table 1. Demographic and anthropometric characteristics of the 82 patients analyzed, according to the presence or absence of insulin resistance.

VARIABLES	N (%)	IR		P
		Absent (n=60)	Present (n=22)	
Male gender	42 (51%)	32 (53%)	10 (45%)	NS
Obesity	15 (18%)	10 (17%)	5 (23%)	NS
Metabolic syndrome	24 (29%)	15 (25%)	9 (41%)	NS
Hypertension	39 (48%)	26 (43%)	13 (59%)	NS

Table 2. Clinical and anthropometric data of the 82 patients, according to the presence or absence of insulin resistance (IR).

VARIABLES	Mean (SD)	Min-Max	IR		P
			absent	Present	
Age (years)	50.7 (12,1)	23 - 79	49.7 (12,3)	56.9 (10.1)	0.03
Abdominal c. (cm)	89.7 (10,7)	59 - 124	87.1 (11,1)	97.8 (11.9)	0.04
Weight (Kg)	69.9 (12,6)	40.3 - 108	68.9 (11.7)	72.7 (14.7)	NS
Height (meters)	1.64 (0,1)	1.44 – 1.87	1.65 (0.1)	1.61 (0.1)	NS
BMI (Kg/m ²)	26.1 (4,3)	17.7 – 40.5	25.4 (4.1)	28.1 (4.4)	0.01
SBP (mmHg)*	133.1 (19,6)	100-180	128 (16.9)	131.1 (20.9)	NS
DBP (mmHg)**	85.2 (12,3)	60-120	85 (11.6)	85.7 (14.5)	NS

SBP = systolic blood pressure; DBP = diastolic blood pressure

Table 3. Laboratory data of the 82 patients, according to the presence or absence of insulin resistance (IR).

VARIABLES	Mean (SD)	Min-Max	IR		P
			absent	Present	
Fasting glucose	92.1 (12.9)	74 - 122	87.6 (10.5)	96.8 (12.8)	0.004
Fasting insulin	8.6 (7.0)	0 – 38.9	5.4 (3.1)	18.1 (7.1)	<0.0001
HOMA-IR*	1.5 (1.9)	0 – 10.9	1.1 (0.7)	4.4 (2.0)	<0.0001
Triglycerides	108.3 (58.6)	28 - 385	118.5 (71.3)	118.7 (53.4)	NS
Total Cholesterol	172.8 (37.7)	77 - 259	179.6 (31.2)	178 (41.2)	NS
HDL-cholesterol	47.9 (14)	21 – 82	47.5 (14)	43.1 (10.7)	NS
PCR	0.29 (1.3)	0.1 – 6.6	0.6 (0.8)	1.1 (2.1)	NS
Ferritin	146.5 (168.6)	18.5 - 1000	167.9 (136.3)	199.8 (194.3)	NS
ALT (x URV) *	1.6 (1.6)	0.2 – 9.1	1.5 (0.7)	3.0 (2.3)	0.03
AST (x URV)	1.6 (0.9)	0.3 – 4.7	1.2 (0.6)	2.5 (1.4)	< 0.0001
GGT (x URV) *	1.0 (1.4)	0.1 – 8.1	1.2 (1.4)	1.4 (0.8)	0.03
Albumin	4.2 (0.5)	3.3 – 5.7	4.3 (0.4)	4.0 (0.6)	0.003
INR*	1.1 (0.3)	1 – 3.4	1.1 (0.1)	1.2 (0.2)	0.02
Platelets (x1000)	205 (79.9)	71 – 418	209.8 (72.2)	171.7 (54.0)	NS
Viral load (UI/ml)**	2,377,519	256-37200,000	2,480,319	2,118,353	NS
Genotype 1	61 (77%)		46 (81%)	15 (68%)	NS

*Mann Whitney; xURV = times the upper reference value **performed in 74 patients

Table 4. Histological data of the 80 patients, according to the presence or absence of insulin resistance (IR).

VARIABLES		IR		P
		absent	present	
Steatosis*	33 (42%)	19 (32%)	14 (74%)	0,001
Liver cirrhosis***	09 (11%)	4 (44%)	5 (56%)	NS
Fibrosis (mean \pm SD) **	1,34 (1,33)	1,1 (1,2)	2,2 (1,4)	0,005
Fibrosis \geq 2*	29 (36%)	16 (27%)	13 (62%)	0,004
PPA (mean \pm SD) **	1,49 (0,8)	1,4 (0,8)	1,9 (0,9)	0,04
PPA \geq 2*	36 (46%)	24 (41%)	12 (63%)	0,08

* Chi-squared; ** t test; PPA = periportal necro-inflammatory activity *** liver cirrhosis
(02 patients did not undergo liver biopsy)