



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

THABATA GLENDA FENILI AMORIM

**VALIDAÇÃO E COMPARAÇÃO DOS MODELOS APRI, FIB-4
E DA RAZÃO AST/ALT COMO MARCADORES DE FIBROSE
HEPÁTICA EM PORTADORES DE HEPATITE C CRÔNICA**

Florianópolis

2011

THABATA GLENDA FENILI AMORIM

**VALIDAÇÃO E COMPARAÇÃO DOS MODELOS APRI, FIB-4
E DA RAZÃO AST/ALT COMO MARCADORES DE FIBROSE
HEPÁTICA EM PORTADORES DE HEPATITE C CRÔNICA**

**Trabalho apresentado à Universidade Federal
de Santa Catarina, como requisito para a
conclusão do Curso de Graduação em
Medicina.**

Florianópolis

Universidade Federal de Santa Catarina

2011

THABATA GLENDA FENILI AMORIM

**VALIDAÇÃO E COMPARAÇÃO DOS MODELOS APRI, FIB-4
E DA RAZÃO AST/ALT COMO MARCADORES DE FIBROSE
HEPÁTICA EM PORTADORES DE HEPATITE C CRÔNICA**

Trabalho apresentado à Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para a conclusão do Curso de Graduação em Medicina.

Presidente do Colegiado: Prof. Dr. Carlos Eduardo Andrade Pinheiro

Professor Orientador: Prof. Dr. Leonardo de Lucca Schiavon

Florianópolis

Universidade Federal de Santa Catarina

2011

Amorim, Thabata Glenda Fenili

Validação e comparação dos modelos APRI, FIB-4 e da razão AST/ALT como marcadores de fibrose hepática em portadores de hepatite C crônica./ Thabata Glenda Fenili Amorim. – Florianópolis, 2011. 37p.

Orientador: Leonardo de Lucca Schiavon.

Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal de Santa Catarina – Curso de Graduação em Medicina.

1. Hepatite C crônica 2. Fibrose hepática 3. Diagnóstico

I. Título.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, professor Leonardo, toda minha admiração por seus conhecimentos, por sua dedicação, responsabilidade e competência. Por sua paciência, compreensão, respeito ao meu tempo e às minhas limitações, por todo o estímulo e por acreditar na minha capacidade. Muito obrigada por sua disponibilidade e atenção em todos os momentos, principalmente naqueles de maiores questionamentos, que tanto contribuíram para o aperfeiçoamento deste trabalho.

Aos demais integrantes do Núcleo de Estudos em Gastroenterologia e Hepatologia e à professora Beatriz do Departamento de Patologia que tiveram participação fundamental na elaboração e desenvolvimento deste projeto. A vocês, o meu reconhecimento. Muito obrigada pela colaboração.

Aos meus amigos e colegas de turma que, direta ou indiretamente, compartilharam as angústias e dúvidas com as quais nos deparamos durante este tortuoso percurso chamado TCC. Obrigada por todas as dicas, pelas palavras de apoio e incentivo. Vocês são especiais.

À minha família, meu porto seguro nos períodos de mar revolto. Um agradecimento especial aos que estão sempre pertinho, minha mãe Rosangela, meu irmão Israel, minha avó Maria, por compreenderem minhas ausências, por agüentarem meus momentos de apreensão e medo, por todo amor e pelas lições de vida que a cada dia contribuem com o meu amadurecimento. Ao meu pai Antônio, com quem muitas vezes não pude almoçar, conversar, passar o tempo, mas que, mesmo um pouco distante, faz-se presente em minha vida. Aos meus irmãos Iuri e Maria Verônica, com os quais tenho pouco convívio, mas que moram no meu coração. Aos meus tios, tias e primos, que me apóiam e torcem pelo meu sucesso. Muito obrigada por fazerem parte da minha vida. Amo muito todos vocês.

Ao meu namorado Ronaldo, que vivenciou comigo mais esta etapa da longa jornada para a formação médica. Muito obrigada por sua compreensão, paciência, respeito, carinho e por todo seu amor. Por estar sempre ao meu lado e não me deixar fraquejar. *Amore*, você é muito especial pra mim. Amo muito você.

PÁGINA TÍTULO

Título do manuscrito: Validação e Comparação dos Modelos APRI, FIB-4 e da Razão AST/ALT como Marcadores de Fibrose Hepática em Portadores de Hepatite C Crônica.

Autores: Thabata Glenda Fenili Amorim¹, Guilherme Jönck Staub¹, César Lazzarotto¹, André Pacheco Silva¹, Joice Manes¹, Maria da Graça Ferronato¹, Maria Beatriz Cacesse Shiozawa², Janaína Luz Narciso-Schiavon¹, Esther Buzaglo Dantas Correa¹, Leonardo de Lucca Schiavon¹

Afilições: ¹NEGH (Núcleo de Estudos em Gastroenterologia e Hepatologia), Serviço de Gastroenterologia, Universidade Federal de Santa Catarina.

²Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Catarina.

Palavras-Chave: Hepatite C Crônica, Fibrose Hepática, Diagnóstico.

PÁGINA RODAPÉ

Informações para contato:

Leonardo de Lucca Schiavon

Rua Durval Pires da Cunha, 210, 88.051-150 – Florianópolis – SC – Brasil

Telefone: (+55 48) 3209 6854

E-mail: leo-jf@uol.com.br

Conflitos de interesse: nada a declarar

Abreviaturas:

HCV: vírus da hepatite C.

AST: aspartato aminotransferase.

ALT: alanina aminotransferase.

APRI: índice da razão AST/plaquetas.

HBV: vírus da hepatite B.

HIV: vírus da imunodeficiência humana.

GGT: gamaglutamiltransferase.

FA: fosfatase alcalina.

APP: atividade periportal.

VPP: valor preditivo positivo.

VPN: valor preditivo negativo.

RESUMO

Introdução: Apesar de ser procedimento padrão na avaliação das hepatopatias crônicas, a biópsia hepática é um método invasivo sujeito a variabilidades amostral, inter e intraobservador. Assim, marcadores indiretos de fibrose hepática têm sido propostos, com disponibilidades e acurácias variáveis. **Objetivo:** Validar e comparar desempenho de modelos propostos como preditivos de fibrose em portadores crônicos do HCV. **Métodos:** Estudo transversal incluindo pacientes com HCV-RNA (+) submetidos à biópsia, avaliada segundo critérios da SBP/SBH. Definiu-se fibrose significativa como estadiamento ≥ 2 . Curvas ROC avaliaram e compararam o desempenho diagnóstico destes modelos em prever fibrose significativa à biópsia. **Resultados:** Foram incluídos 119 pacientes com média de idade $43,7 \pm 10,6$ anos, sendo 62% homens. Fibrose significativa foi identificada em 41 pacientes (35%). As AUROC foram: APRI = $0,793 \pm 0,047$, FIB-4 = $0,811 \pm 0,045$ e razão AST/ALT = $0,661 \pm 0,055$ ($P < 0,05$ para comparação do APRI vs. AST/ALT e FIB-4 vs. AST/ALT). Considerando pontos de corte clássicos para APRI e FIB-4, seus VPP e VPN foram respectivamente, 77% e 92%, 83% e 81%. Foram diagnosticados erroneamente 13 indivíduos (19%) pelo APRI e 16 (18%) pelo FIB-4. Restringindo-se a indicação de biópsia hepática aos indivíduos com valores intermediários de cada modelo, esta poderia ser corretamente evitada em 47% com APRI e 63% com FIB-4. **Conclusões:** Os modelos APRI e FIB-4 foram superiores à razão AST/ALT no diagnóstico da fibrose significativa em portadores do HCV. Mesmo que o desempenho geral do APRI e do FIB-4 tenha sido semelhante, uma maior proporção dos pacientes é corretamente classificada através do FIB-4.

ABSTRACT

Introduction: Although it is standard procedure in the evaluation of chronic liver disease, liver biopsy is an invasive method subject to sampling error and intra or inter-observer variability. Thus, surrogate markers of liver fibrosis have been proposed, with variable availability and accuracy. **Aim:** Validate and compare the performance of APRI and FIB-4 as predictors of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. **Methods:** Cross-sectional study including patients with HCV-RNA (+) who underwent liver biopsy at our institution. Significant fibrosis was defined as stage ≥ 2 according to SBP/SBH criteria. The diagnostic performance of the models in predicting significant fibrosis were evaluated and compared by ROC curves. **Results:** The study included 119 patients, with mean age of 43.7 ± 10.6 years and 62% males. Significant fibrosis was identified in 41 patients (35%). The AUROCs observed were: APRI = 0.793 ± 0.047 , FIB-4 = 0.811 ± 0.045 and AST/ALT ratio = 0.661 ± 0.055 ($P < 0.05$ to compare APRI vs. AST/ALT e FIB-4 vs. AST/ALT). Considering classic cutoffs, the PPV and NPV for APRI and FIB-4 were, respectively, 77% and 92% and 83% and 81%. Thirteen (19%) patients were misdiagnosed by APRI and 16 (18%) by FIB-4. By restricting the indication of liver biopsy to patients with intermediate values of each model, it could have been correctly avoided in 47% and 63% of the patients with APRI and FIB-4, respectively. **Conclusion:** The models APRI and FIB-4 were superior to AST/ALT ratio in the diagnosis of significant fibrosis in patients with chronic HCV infection. Even though the overall performance of APRI and FIB-4 was similar, a higher proportion of patients may be correctly classified by FIB-4.

INTRODUÇÃO

As doenças hepáticas crônicas figuram entre as causas mais importantes de morbidade e mortalidade em todo o mundo, sendo a infecção crônica pelo vírus da hepatite C (HCV) uma de suas principais etiologias (1-2). Estima-se que 2 a 3% da população mundial esteja infectada pelo HCV, o que representa 130 a 170 milhões de portadores crônicos da infecção (3-4). No Brasil, apesar de poucos estudos terem avaliado a prevalência da hepatite C, um estudo de base populacional recente realizado pelo Ministério da Saúde com mais de 19.000 indivíduos mostrou que 1,38% dos envolvidos foram reagentes para o anti-HCV (5).

A infecção pelo HCV está associada a diversos graus de inflamação hepática e fibrose progressiva, a qual pode resultar em cirrose e, até mesmo, progredir para carcinoma hepatocelular (6). Entre 20 e 30% dos portadores crônicos do HCV evoluirão para cirrose, com risco de evolução para formas descompensadas de 18% em cinco anos (7-8). Há risco aumentado de desenvolvimento de carcinoma hepatocelular nos pacientes cirróticos devido ao HCV, com uma incidência estimada de 1 a 5% ao ano, sendo incomum o aparecimento de carcinoma hepatocelular em pacientes sem cirrose (9). Globalmente, são mais de 350.000 mortes anuais resultantes da infecção pelo HCV (1).

A fibrose hepática é decorrente de um processo de regeneração contínua em resposta a injúrias constantes ao tecido hepático. A fibrogênese avançada e desordenada pode resultar em distorção arquitetural progressiva, formando cicatrizes no tecido e, subseqüentemente, desenvolvendo nódulos de hepatócitos característicos de cirrose (10). Atualmente, o principal método utilizado para o

estadiamento da fibrose é a análise histopatológica de material obtido por biópsia hepática. Por possuir sistemas de classificação já validados, permitindo estimar a atividade necroinflamatória e realizar o diagnóstico diferencial, a biópsia hepática ainda é considerada ferramenta padrão ouro na avaliação da fibrose hepática. Apesar disso, trata-se de um procedimento invasivo, não isento de riscos aos pacientes e está sujeito a diversas limitações, tais como erros amostrais e variabilidade inter e intraobservador (11-13). Por estes motivos, nos últimos anos, métodos não invasivos para o diagnóstico da fibrose hepática relacionada ao HCV vêm sendo estudados. Testes séricos indiretos ou simples são parâmetros hematológicos e bioquímicos medidos no sangue periférico que, isolados ou combinados, expressam alterações na função hepática decorrentes da fibrose já estabelecida. Dentre os testes indiretos mais importantes estão a razão aspartato aminotransferase (AST) / alanina aminotransferase (ALT), o FIB-4 e o índice da razão AST/plaquetas (APRI) (14-16). Estes modelos são baseados em testes rotineiros, de baixo custo e técnicas de fácil execução, o que amplia a possibilidade de seu emprego na prática clínica diária. O objetivo principal deste estudo foi validar e comparar o desempenho de testes sanguíneos simples como marcadores não invasivos de fibrose hepática significativa em portadores de hepatite C crônica.

MATERIAIS E MÉTODOS

Casuística

Realizou-se estudo transversal, de caráter retrospectivo, através de revisão dos prontuários médicos de pacientes que realizaram biópsia hepática no Hospital

Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC) no período entre janeiro de 2001 a janeiro de 2010. As biópsias hepáticas foram realizadas por agulha de sucção de 16-Gauge. Infecção pelo HCV foi definida como HCV-RNA positivo por PCR (> 50 UI/mL). Pacientes com as seguintes condições foram excluídos: tratamento prévio com interferon, coinfeção com vírus da hepatite B (HBV) e/ou vírus da imunodeficiência humana (HIV), amostra de tecido hepático insuficiente para estadiamento e dados laboratoriais incompletos.

O protocolo do estudo está em conformidade com os preceitos éticos da declaração de Helsinki e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina.

Métodos

Informações sobre todos os indivíduos infectados pelo HCV e que realizaram biópsia hepática na instituição foram revisadas e variáveis clínicas, demográficas e laboratoriais foram extraídas dos prontuários médicos.

As seguintes variáveis laboratoriais foram estudadas (expressas em valores absolutos): aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), gamaglutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (FA), contagem de plaquetas, proteínas totais, albumina, atividade de protrombina. Apenas exames laboratoriais executados dentro de seis meses da realização da biópsia hepática foram considerados neste estudo. Os modelos de marcadores não invasivos avaliados foram: razão AST/ALT (14); APRI = $(AST [x \text{ Limite Superior da Normalidade}] / \text{Plaquetas } [10^9/L] \times 100)$ (15); e FIB4 = $(\text{Idade [anos]} \times AST [U/L] / (\text{Plaquetas } [10^9/L] \times \sqrt{ALT [U/L]}))$ (16).

Análise Histológica

Todos os pacientes foram submetidos à biópsia hepática independentemente dos níveis de ALT. Foi utilizada a classificação da Sociedade Brasileira de Patologia e Sociedade Brasileira de Hepatologia (SBP/SBH) (17). Estadiamento (E) significativo foi definido como E2, E3 ou E4 e atividade significativa como atividade periportal (APP) 2, APP3 ou APP4.

Análise estatística

Variáveis contínuas foram descritas com medidas de tendência central e dispersão, enquanto as variáveis categóricas foram descritas em números absolutos e proporções. Variáveis contínuas foram comparadas através dos testes t de Student ou Mann-Whitney quando apropriado, e as variáveis categóricas avaliadas pelo teste qui-quadrado. Valor de p menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo. A acurácia diagnóstica dos testes não invasivos foi analisada através de curvas ROC (*receiver operating characteristics*) e através do cálculo da sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo. As comparações das curvas ROC foram realizadas pelo software MedCalc versão 9.3 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium) pela técnica descrita por Hanley & McNeil (18). Todos os testes utilizados foram bi-caudais e executados pelo programa estatístico SPSS, versão 17.0 (SPSS, Chicago, IL, EUA).

RESULTADOS

Características da casuística

No período entre janeiro de 2001 a janeiro de 2010, foram realizadas 431 biópsias hepáticas no serviço de Gastroenterologia do HU-UFSC. Deste total, 217 pacientes eram portadores de infecção pelo HCV, dos quais 40 possuíam biópsias repetidas e 58 tinham dados laboratoriais incompletos, não sendo, por estes motivos, incluídos no estudo. Outros 214 pacientes também não foram considerados para o estudo pelas seguintes razões: 81 eram portadores de infecção pelo HBV, 18 apresentavam doença hepática gordurosa não alcoólica, 19 eram portadores de hepatite autoimune e 96 tinham outros diagnósticos. Ao final, 119 pacientes portadores de HCV foram incluídos na pesquisa (Fig. 1). Os 58 pacientes excluídos por dados incompletos foram comparados aos incluídos, não sendo observadas diferenças quanto às variáveis clínicas, demográficas, laboratoriais e histológicas disponíveis (dados não mostrados). Considerando os 119 pacientes incluídos no estudo, a idade média à época da biópsia foi de $43,7 \pm 10,6$ anos, sendo 62% do sexo masculino. Etilismo significativo ($>50\text{g}/\text{dia}$) foi notado em 18% dos pacientes. A mediana dos níveis de ALT foi de 78 UI/L, de AST 48 UI/L e de GGT 77 UI/L. A atividade de protrombina média foi de $86,4 \pm 12,7$ e de contagem de plaquetas foi 200.201 ± 54.593 . Esteatose hepática foi observada em 54% dos pacientes e o mesmo percentual apresentava atividade periportal ≥ 2 (Tabela 1). Fibrose significativa (E2/3/4) foi identificada em 41 pacientes (35%) (Fig. 2).

Fatores associados à presença de fibrose significativa

Quando comparados os grupos com e sem fibrose significativa, não foram observadas diferenças quanto ao gênero e o antecedente de etilismo significativo. Da mesma forma, as médias de atividade de protrombina e a proporção de indivíduos com esteatose à análise histológica foram semelhantes entre ambos os grupos. Os pacientes com fibrose significativa apresentaram maiores médias de idade, assim como maiores medianas de AST, ALT e GGT. Maior prevalência de APP ≥ 2 à biópsia hepática foi observada entre os pacientes com fibrose significativa, enquanto a média de contagem de plaquetas neste mesmo grupo revelou-se menor do que nos pacientes sem fibrose significativa. As medianas da razão AST/ALT ($P = 0,007$) e dos modelos APRI ($P < 0,001$) e FIB-4 ($P < 0,001$) foram significativamente mais elevadas nos indivíduos com estadiamento ≥ 2 quando comparados aos demais.

Desempenho dos marcadores não invasivos de fibrose hepática

Quando analisados os três modelos propostos, as AUROC observadas para a razão AST/ALT, o APRI e o FIB-4 foram de $0,661 \pm 0,055$; $0,793 \pm 0,047$ e $0,811 \pm 0,045$, respectivamente (Fig. 3). Na comparação de desempenho entre os modelos, não foram observadas diferenças entre as AUROC do APRI vs. FIB-4 ($P = 0,575$). A AUROC do FIB-4 foi significativamente maior que a da razão AST/ALT ($P = 0,014$) e houve uma tendência à maior AUROC do APRI quando comparada à razão AST/ALT ($P = 0,054$). A tabela 2 mostra detalhadamente o desempenho diagnóstico dos modelos APRI e FIB-4 na avaliação da fibrose hepática significativa. Para o APRI foram utilizados os pontos de corte clássicos ($\leq 0,5$ e $> 1,5$, respectivamente).

Quando comparado à biópsia hepática, valores de APRI $> 1,5$ mostraram um VPP de 77% para o diagnóstico da fibrose significativa enquanto APRI $\leq 0,5$ foi capaz de excluir o E ≥ 2 com VPN de 83%. Dentre os pacientes incluídos na pesquisa, 69 (58%) foram classificáveis pelo APRI, sendo que 13 deles (19%) foram erroneamente diagnosticados por este modelo. Resultados semelhantes foram observados com o FIB-4 também com seus pontos de corte originalmente propostos ($<1,45$ e $> 3,25$). Valores de FIB-4 $> 3,25$ mostraram um VPP de 92% para o diagnóstico da fibrose significativa enquanto FIB-4 $<1,45$ foi capaz de excluir o E ≥ 2 com VPN de 81%. Noventa pacientes (77%) foram classificáveis pelo FIB-4 e destes, 16 (18%) tiveram diagnóstico incorreto. Restringindo-se a indicação de biópsia hepática aos indivíduos com valores intermediários de cada modelo, esta poderia ser corretamente evitada em 47% dos pacientes com o APRI e em 63% com o FIB-4.

DISCUSSÃO

A utilização de uma ferramenta rápida, segura e acurada para estimar o estágio da fibrose hepática nos portadores de infecção crônica pelo HCV é atualmente considerada fundamental na avaliação clínica e seguimento destes pacientes (19-20). Determinando o estadiamento da fibrose e compreendendo os possíveis fatores associados à velocidade de progressão para cirrose (como sexo, idade à infecção, obesidade e diabetes *mellitus*, ingestão alcoólica diária, conteúdo de ferro hepático), obtêm-se dados relevantes sobre o prognóstico da doença, os quais podem também guiar futuras decisões terapêuticas.

Ainda que a biópsia hepática seja considerada o método padrão ouro para o estadiamento da fibrose, este procedimento não é isento de riscos e possui importantes limitações (11-13). Tendo em vista todos os impasses relacionados à biópsia, diversos testes não invasivos, tais como APRI, FIB-4 e razão AST/ALT, têm sido desenvolvidos, comparados e validados como marcadores de fibrose hepática em pacientes portadores de doenças hepáticas crônicas, sobretudo naqueles infectados pelo HCV.

O APRI foi proposto e validado inicialmente para pacientes com hepatite C crônica e, em estudos posteriores, para outras populações e diferentes doenças hepáticas também associadas à fibrose e evolução para cirrose (15, 21-24). É um modelo de marcador não invasivo simples que utiliza parâmetros laboratoriais rotineiros, de baixo custo, com a intenção de detectar fibrose significativa ou cirrose.

No presente estudo, a AUROC observada para o APRI na detecção de fibrose significativa ($\geq E2$) foi de $0,793 \pm 0,047$, com um VPP de 77% para valores $>1,5$, e VPN de 83% para valores $\leq 0,5$. Além disso, o ponto de corte 0,5 demonstrou 81% de sensibilidade e 50% de especificidade, enquanto o ponto de corte 1,5 mostrou-se mais específico (94%) e menos sensível (42%). Quando o modelo APRI foi inicialmente descrito no estudo original de Wai *et al.* (15), a AUROC para fibrose significativa foi 0,88 na coorte de validação, com VPP de 91% para valores de APRI $> 1,5$ e VPN de 90% para valores $\leq 0,5$, resultados estes superiores aos observados no presente estudo. No entanto, duas revisões sistemáticas que investigaram o desempenho do APRI em portadores do HCV mostraram resultados semelhantes aos dados aqui apresentados. A primeira, que incluiu 19 estudos que analisaram o APRI como preditor de fibrose significativa em um total de 3.788 pacientes (25),

mostrou uma AUROC agrupada de 0,76. Considerando a prevalência média de 47% de fibrose significativa nos estudos revisados, o VPP e o VPN estimados para o ponto de corte $\leq 0,5$ foram de 59% e 75%, respectivamente; enquanto para valores de APRI $> 1,5$, o VPP foi de 77% e o VPN foi de 61%. Outra meta-análise mais recente realizada por Lin *et al.* (26) exibiu desempenho semelhante do APRI em prever fibrose significativa relacionada à monoinfecção pelo HCV quando comparada à revisão prévia de Shaheen e Myers (25). Analisando 33 estudos com um total de 6.259 pacientes, a AUROC encontrada foi 0,77, com 74% de sensibilidade e 49% de especificidade para valores de APRI $\leq 0,5$. O ponto de corte $> 1,5$ foi mais específico (93%), porém menos sensível (37%). A prevalência média de fibrose significativa foi de 46%, o que correspondeu a um VPP de 55% e um VPN de 69% para valores $\leq 0,5$, e VPP e VPN estimados de 82% e 63%, respectivamente, para valores $>1,5$. Alguns fatores como a utilização de classificações histológicas distintas, limitações inerentes à biópsia hepática e diferentes prevalências de fibrose significativa podem justificar a diferença observada no desempenho dos marcadores não invasivos entre os diversos estudos.

O FIB-4 também é um modelo de marcador não invasivo simples desenvolvido a partir de parâmetros amplamente utilizados na avaliação de doenças hepáticas, como AST, ALT, contagem de plaquetas, além da idade do paciente. Foi proposto inicialmente por pesquisadores do estudo APRICOT (AIDS Pegasys Ribavirin International Coinfection Trial) para avaliar a presença de fibrose hepática em portadores de coinfeção HIV/HCV (16), sendo posteriormente validado em pacientes monoinfectados pelo HCV (27).

No presente estudo, a AUROC encontrada para o FIB-4 capaz de prever fibrose significativa foi $0,811 \pm 0,045$, com sensibilidade de 63% e 28% e especificidade de 82% e 99% para pontos de corte $< 1,45$ e $> 3,25$, respectivamente. O VPN foi de 81% para valores de FIB-4 $< 1,45$, enquanto o VPP para ponto de corte $> 3,25$ foi de 92%. De maneira semelhante, no estudo que visou a validação do modelo FIB-4 em pacientes mono infectados pelo HCV, Vallet-Pichard *et al.* (27) observou uma AUROC de 0,85 para identificação de fibrose E3-E4. O ponto de corte $< 1,45$ demonstrou um VPN de 94,7%, com sensibilidade e especificidade de 74,3% e 80,1%, respectivamente. Valores de FIB-4 $> 3,25$ tiveram um VPP de 82,1%, com menor sensibilidade (37,6%) e maior especificidade (98,2%). Resultados semelhantes foram obtidos por outros autores que avaliaram o desempenho do FIB-4 em pacientes mono infectados pelo HCV, com AUROC variando entre 0,760 e 0,799 (28-30).

Quando o desempenho diagnóstico do APRI foi comparado ao FIB-4, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as AUROC (0,793 vs. 0,811, $P = 0,575$). Estes resultados estão de acordo com os achados da maioria dos estudos nos quais o desempenho geral dos modelos APRI e FIB-4, quando avaliados pela AUROC, foi semelhante (28, 31-32). No entanto, a proporção de biópsias que seriam corretamente evitadas no presente estudo foi substancialmente maior com o uso do FIB-4 em relação ao APRI (63% vs. 47%). Apesar de existirem poucos dados a respeito especificamente da proporção de classificações corretas, resultados semelhantes foram demonstrados em um estudo recente que incluiu 340 portadores do HCV, no qual uma proporção maior de indivíduos foi corretamente classificada por meio do FIB-4 quando comparado ao APRI (59% vs. 48%), a

despeito da AUROC similar para os dois testes (0,85 vs. 0,83) (32). Estes achados sugerem que, pela maior proporção de classificações corretas, o FIB-4 provavelmente seja uma ferramenta mais útil para incorporação na prática diária, apesar de apresentar um cálculo mais complexo.

A razão AST/ALT vem sendo utilizada há vários anos como um método não invasivo para a avaliação da gravidade de doenças hepáticas crônicas, incluindo a infecção crônica pelo HCV (33-35). Apesar de alguns estudos terem encontrado resultados promissores, o desempenho da razão AST/ALT como marcador não invasivo de fibrose é no geral baixo, especialmente no diagnóstico de estádios menos avançados de fibrose (36-37). Estes achados são corroborados pelos resultados do presente estudo, no qual a AUROC para a razão AST/ALT no diagnóstico de fibrose significativa foi de $0,661 \pm 0,055$. Quando comparadas as AUROC de todos os marcadores avaliados, pode-se observar uma superioridade do APRI e do FIB-4 em relação à razão AST/ALT. Resultados semelhantes foram descritos por Lackner *et al.* (38), que demonstrou maior acurácia diagnóstica para fibrose significativa do APRI (AUROC = 0,8) sobre a razão AST/ALT (AUROC = 0,57), com valor de $P < 0,05$.

Algumas limitações deste estudo merecem ser discutidas. A utilização de dados coletados retrospectivamente e a pequena proporção de pacientes com cirrose incluídos poderia indicar viés de seleção. No entanto, a comparação dos portadores do HCV excluídos da análise com os incluídos não mostrou diferenças significativas com relação às variáveis clínicas e histológicas. Além disso, a prevalência dos diferentes estádios de fibrose é variável entre os estudos e é possível que os achados desta amostra reflitam peculiaridades locais. Outra

limitação em potencial é o uso da biópsia hepática como padrão ouro para avaliação do estadiamento, já que este método possui várias limitações já discutidas anteriormente. No entanto, este problema é comum a todos os estudos que buscam marcadores não invasivos de fibrose hepática e, até o momento, a biópsia permanece como principal ferramenta na quantificação da fibrose.

Com este estudo foi possível demonstrar que os modelos APRI e FIB-4 foram superiores à razão AST/ALT no diagnóstico de fibrose significativa em pacientes portadores crônicos do HCV. Ainda que o desempenho geral do APRI e do FIB-4 tenha sido semelhante, o ganho observado na proporção de pacientes classificados pelo FIB-4 pode representar um maior número de biópsias corretamente evitadas, o que, na prática, é o objetivo final da busca por marcadores não invasivos de fibrose.

REFERÊNCIAS

1. Hatzakis A, Wait S, Bruix J, Buti M, Carballo M, Cavaleri M, Colombo M, et al. The state of hepatitis B and C in Europe: report from the hepatitis B and C summit conference*. *J Viral Hepat* 2011;18 Suppl 1:1-16.
2. Lavanchy D. The global burden of hepatitis C. *Liver Int* 2009;29 Suppl 1:74-81.
3. Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect Dis* 2005;5:558-67.
4. Lavanchy D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus. *Clin Microbiol Infect* 2011;17:107-15.
5. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico das Hepatites Virais 2011. [Http://www.aids.gov.br/publicacao/2011/boletim_epidemiologico_hepatites_viraiv_2011](http://www.aids.gov.br/publicacao/2011/boletim_epidemiologico_hepatites_viraiv_2011). Accessed August 7, 2011.
6. Massard J, Ratziu V, Thabut D, Moussalli J, Lebray P, Benhamou Y, Poynard T. Natural history and predictors of disease severity in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2006;44:S19-24.
7. Fattovich G, Giustina G, Degos F, Tremolada F, Diodati G, Almasio P, Nevens F, et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology* 1997;112:463-72.
8. 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.
9. Afdhal NH. The natural history of hepatitis C. *Semin Liver Dis* 2004;24 Suppl 2:3-8.
10. Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest* 2005;115:209-18.

11. Al Knawy B, Shiffman M. Percutaneous liver biopsy in clinical practice. *Liver Int* 2007;27:1166-73.
12. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pyrsopoulos NT, Feng ZZ, et al. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2614-18.
13. Siddique I, El-Naga HA, Madda JP, Memon A, Hasan F. Sampling variability on percutaneous liver biopsy in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Scand J Gastroenterol* 2003;38:427-32.
14. Williams AL, Hoofnagle JH. Ratio of serum aspartate to alanine aminotransferase in chronic hepatitis. Relationship to cirrhosis. *Gastroenterology* 1988;95:734-9.
15. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, Lok AS. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;38:518-26.
16. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, M SS, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology* 2006;43:1317-25.
17. Gayotto LC, SBP/SBH. Visão histórica e consenso nacional sobre a classificação das hepatites crônicas. Projeto do Clube de Patologia Hepática da Sociedade Brasileira de Patologia aprovado pela Sociedade Brasileira de Hepatologia. *GED* 2000;19:137-40.
18. Hanley JA, McNeil BJ. A method of comparing the areas under receiver operating characteristic curves derived from the same cases. *Radiology* 1983;148:839-43.

19. Pinzani M, Rombouts K, Colagrande S. Fibrosis in chronic liver diseases: diagnosis and management. *J Hepatol* 2005;42 Suppl:S22-36.
20. Guha IN, Rosenberg WM. Noninvasive assessment of liver fibrosis: serum markers, imaging, and other modalities. *Clin Liver Dis* 2008;12:883-900, x.
21. Schiavon LL, Schiavon JL, Filho RJ, Sampaio JP, Lanzoni VP, Silva AE, Ferraz ML. Simple blood tests as noninvasive markers of liver fibrosis in hemodialysis patients with chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2007;46:307-14.
22. Carvalho-Filho RJ, Schiavon LL, Narciso-Schiavon JL, Sampaio JP, Lanzoni VP, Ferraz ML, Silva AE. Optimized cutoffs improve performance of the aspartate aminotransferase to platelet ratio index for predicting significant liver fibrosis in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus co-infection. *Liver Int* 2008;28:486-93.
23. Shin WG, Park SH, Jang MK, Hahn TH, Kim JB, Lee MS, Kim DJ, et al. Aspartate aminotransferase to platelet ratio index (APRI) can predict liver fibrosis in chronic hepatitis B. *Dig Liver Dis* 2008;40:267-74.
24. Cales P, Laine F, Boursier J, Deugnier Y, Moal V, Oberti F, Hunault G, et al. Comparison of blood tests for liver fibrosis specific or not to NAFLD. *J Hepatol* 2009;50:165-73.
25. Shaheen AA, Myers RP. Diagnostic accuracy of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the prediction of hepatitis C-related fibrosis: a systematic review. *Hepatology* 2007;46:912-21.
26. Lin ZH, Xin YN, Dong QJ, Wang Q, Jiang XJ, Zhan SH, Sun Y, et al. Performance of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the staging

of hepatitis C-related fibrosis: an updated meta-analysis. *Hepatology* 2011;53:726-36.

27. Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B, Verkarre V, Nalpas A, Dhalluin-Venier V, Fontaine H, et al. FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and fibrotest. *Hepatology* 2007;46:32-6.

28. Zarski JP, Sturm N, Guechot J, Paris A, Zafrani ES, Asselah T, Boisson RC, et al. Comparison of nine blood tests and transient elastography for liver fibrosis in chronic hepatitis C: The ANRS HCEP-23 study. *J Hepatol* 2011.

29. Adler M, Gulbis B, Moreno C, Evrard S, Verset G, Golstein P, Frotscher B, et al. The predictive value of FIB-4 versus FibroTest, APRI, FibroIndex and Forns index to noninvasively estimate fibrosis in hepatitis C and nonhepatitis C liver diseases. *Hepatology* 2008;47:762-3; author reply 763.

30. Cales P, de Ledinghen V, Halfon P, Bacq Y, Leroy V, Boursier J, Foucher J, et al. Evaluating the accuracy and increasing the reliable diagnosis rate of blood tests for liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Liver Int* 2008;28:1352-62.

31. Guzelbulut F, Cetinkaya ZA, Sezikli M, Yasar B, Ozkara S, Ovunc AO. AST-platelet ratio index, Forns index and FIB-4 in the prediction of significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Turk J Gastroenterol* 2011;22:279-85.

32. Martinez SM, Fernandez-Varo G, Gonzalez P, Sampson E, Bruguera M, Navasa M, Jimenez W, et al. Assessment of liver fibrosis before and after antiviral therapy by different serum marker panels in patients with chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;33:138-48.

33. Giannini E, Botta F, Fasoli A, Ceppa P, Risso D, Lantieri PB, Celle G, et al. Progressive liver functional impairment is associated with an increase in AST/ALT ratio. *Dig Dis Sci* 1999;44:1249-53.
34. Giannini E, Risso D, Botta F, Chiarbonello B, Fasoli A, Malfatti F, Romagnoli P, et al. Validity and clinical utility of the aspartate aminotransferase-alanine aminotransferase ratio in assessing disease severity and prognosis in patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease. *Arch Intern Med* 2003;163:218-24.
35. Sheth SG, Flamm SL, Gordon FD, Chopra S. AST/ALT ratio predicts cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol* 1998;93:44-8.
36. Parise ER, Oliveira AC, Figueiredo-Mendes C, Lanzoni V, Martins J, Nader H, Ferraz ML. Noninvasive serum markers in the diagnosis of structural liver damage in chronic hepatitis C virus infection. *Liver Int* 2006;26:1095-99.
37. Shaikh S, Memon MS, Ghani H, Baloch GH, Jaffery M, Shaikh K. Validation of three non-invasive markers in assessing the severity of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *J Coll Physicians Surg Pak* 2009;19:478-2.
38. Lackner C, Struber G, Liegl B, Leibl S, Ofner P, Bankuti C, Bauer B, et al. Comparison and validation of simple noninvasive tests for prediction of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005;41:1376-82.

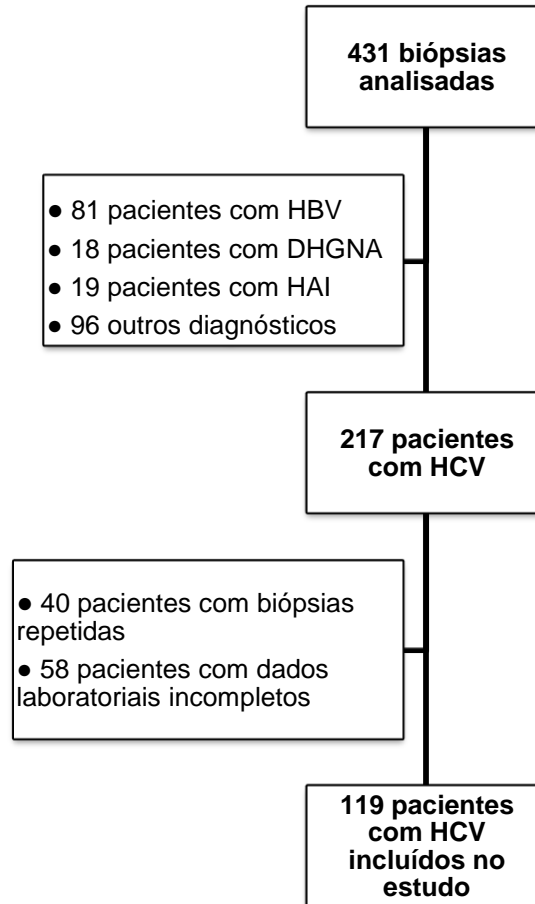


Figura 1 - Fluxograma com os potenciais participantes do estudo, motivos de exclusão e amostra final.

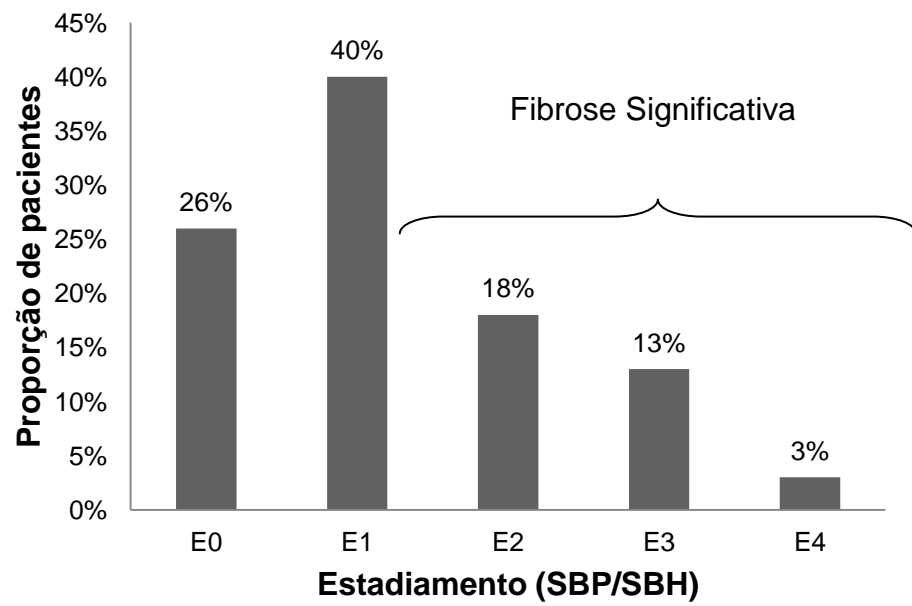


Figura 2 – Distribuição dos pacientes quanto ao estadiamento, segundo classificação da SBP/SBH.

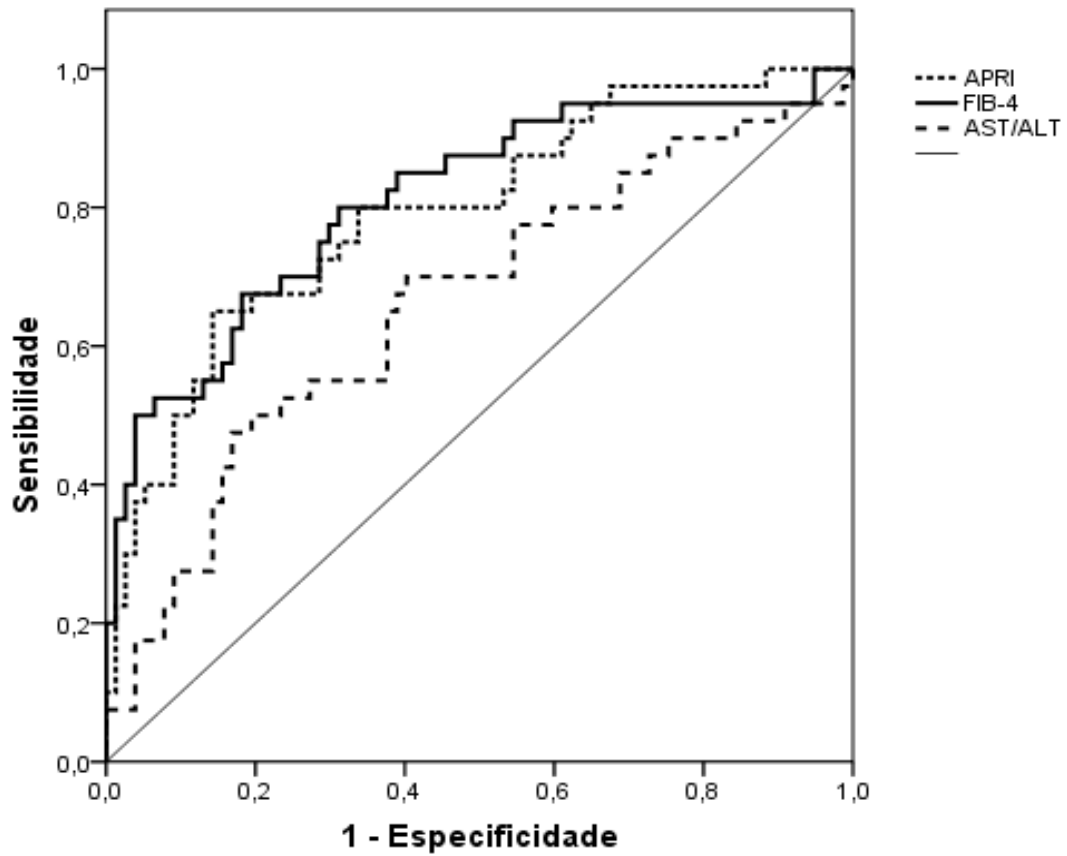


Figura 3 – Áreas sob as curvas ROC (receiver operating characteristics) da razão AST/ALT ($0,661 \pm 0,055$) e dos modelos APRI ($0,793 \pm 0,047$) e FIB-4 ($0,811 \pm 0,045$) para o diagnóstico de fibrose significativa ($\geq E2$).

Tabela 1. Características da população estudada.

Característica	Todos (n = 119)	E0/E1 (n = 78)	E2/E3/E4 (n = 41)	P
Idade (média ± DP, anos)	43,7 ± 10,6	42,0 ± 9,7	47,1 ± 11,3	0,013
Gênero masculino, n (%)	74 (62)	50 (64)	24 (58)	0,552
Etilismo (>50g/dia), n (%)	21 (18)	12 (15)	9 (22)	0,372
AST (mediana, UI/L)	48,0	41,0	67,0	<0,001
ALT (mediana, UI/L)	78,0	70,5	96,0	0,034
GGT (mediana, UI/L) ^a	77,0	49,0	77,0	0,019
AP (média ± DP, %) ^b	86,4 ± 12,7	87,2 ± 12,6	85,0 ± 13,1	0,384
Plaquetas (média ± DP, /mm ³)	200.201 ± 54.593	217.525 ± 46.505	167.243 ± 54.133	<0,001
APP ≥ 2, n (%) ^c	64 (54)	28 (36)	36 (88)	<0,001
Esteatose, n (%) ^d	53 (54)	34 (51)	19 (59)	0,421
AST/ALT	0,61	0,57	0,69	0,007
APRI	0,63	0,50	1,26	<0,001
FIB-4	1,17	1,02	2,02	<0,001

DP = Desvio padrão. APP = Atividade periportal. AP = atividade de protrombina. Disponível para: ^a97; ^b112; ^c118; ^d99.

Tabela 2. Desempenho Diagnóstico dos Modelos na Identificação de Fibrose Significativa (E2/3/4)

	Pontos de corte	Acurácia (%)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	VPP (%)	VPN (%)
	≤ 0,5	60	81	50	46	83
APRI	>1,5	76	42	94	77	75
	<1,45	75	63	82	64	81
FIB-4	>3,25	74	28	99	92	72

NORMAS ADOTADAS

Este trabalho foi realizado seguindo a normatização para trabalhos de conclusão do Curso de Graduação em Medicina, aprovada em reunião do Colegiado do Curso de Graduação em Medicina da Universidade Federal de Santa Catarina, **em 16 de junho de 2011.**

APÊNDICE

INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

Exames laboratoriais - Avaliação de marcadores não-invasivos de fibrose hepática	
1. Registro:	Diagnostico: <input type="checkbox"/> HBV <input type="checkbox"/> HCV <input type="checkbox"/> DHGNA <input type="checkbox"/> HAI <input type="checkbox"/> CBP <input type="checkbox"/> CEP <input type="checkbox"/> _____
2. Nome	
3. Biópsia número: <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4	4. Gênero: <input type="checkbox"/> Fem <input type="checkbox"/> Masc
5. Ano Nascimento: _____	6. Ano 1ª consulta: _____
7. Comorbidade: <input type="checkbox"/> IRC <input type="checkbox"/> TX renal <input type="checkbox"/> HIV	8. Etilismo (> 50g/d; 1ano antes): <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
9. HBeAg: <input type="checkbox"/> Negativo <input type="checkbox"/> Positivo	10. Anti-HBe: <input type="checkbox"/> Negativo <input type="checkbox"/> Positivo
11. HBV-DNA: _____ <input type="checkbox"/> cp/mL <input type="checkbox"/> UI/mL	12. Genótipo HCV: <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4
13. HCV-RNA quanti: _____ UI/mL	14. AST: _____ (_____)
15. ALT: _____ (_____)	16. GGT: _____ (_____)
17. FA: _____ (_____)	18. Plaquetas: _____
19. Proteínas totais: _____	20. Albumina: _____
21. Atividade protromb: _____%	22. Ano Bx: _____ N° Bx: _____
23. Diagnóstico histológico: <input type="checkbox"/> Fígado reacional <input type="checkbox"/> Hepatite crônica <input type="checkbox"/> Cirrose <input type="checkbox"/> Fígado normal <input type="checkbox"/> Esteatose <input type="checkbox"/> Outros	24. Estadiamento (E): _____
	25. Infiltrado Infl. Portal (IIP): _____
	26. Atividade Peri-portal (APP): _____
27. Atividade parenquimatosa (AP): _____	28. Esteatose associada: <input type="checkbox"/> Ausente <input type="checkbox"/> Esteatose <input type="checkbox"/> Esteato-hepatite
29. HBcAg tecido: _____ %	30. HBsAg tecido: _____ %
31. Observações:	

ANEXO 1

NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA

Annals of hepatology 2002; 1(1): January-March: 48-51



Annals
of
hepatology

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

General information

ANNALS OF HEPATOLOGY publishes original research on the biology and diseases of the liver in both humans and experimental models. Contributions may be submitted as regular articles. The journal also publishes concise reviews of both basic and clinical topics. Authors interested in contributing reviews are requested to first contact the Editor or one of the Associate Editors with an outline of the proposed article. Clinical case reports are considered if they provide significant new information on a specific disease. Letters to the Editor may be subjected to peer review and undergo editing for clarity and brevity.

The journal publishes only in English. Authors lacking facility with English syntax should seek the appropriate editorial assistance prior to submitting their manuscript. Material requiring major editorial work will be returned without review.

Authors must submit two complete printed copies of the manuscript, prepared as specified below. The journal also requires a computer disk with identical text and an unmounted, publication-quality set of Tables and Figures. Submissions should be mailed with a cover letter from the corresponding author to:

Nahum Méndez-Sánchez, M.D., PhD
Editor,
ANNALS OF HEPATOLOGY
Puente de Piedra 150, Colonia Toriello Guerra
CP 14040, Mexico, D.F., MEXICO
Telephone: (525) 606-6222 ext. 4215
Fax: (525) 666-4031
nmendez@medicasur.org.mx

The journal uses anonymous peer review in evaluating manuscripts for publication. Manuscripts the Editors think are incomplete or unlikely to be accepted will be returned to the authors as an Early Reject without a full peer review. The Editors allow a single resubmission only after the initial disposition, which should be received within 4 months from the time of receipt of the initial disposition letter. A manuscript requiring more than a single revision or returned beyond 4 months will be considered a new submission. All submitted materials remain in the Editorial Office with the exception of glossy prints. Glossy figures returned by referees will be returned to authors if they are received in the Editorial Office. The Editorial Office will hold one glossy set for their files.

Copyright of all material published in **ANNALS OF HEPATOLOGY** is vested in the Mexican Association of Hepatology. Copyright Assignment form (which follows these guidelines) signed by all authors must accompany all manuscripts. Statements and opinions expressed in the articles and communications in **ANNALS OF HEPATOLOGY** are those of the author(s) and not necessarily those of the Editor(s) or publisher, and the Editor(s) and publisher disclaim any responsibility or liability for such material. Neither the Editor(s) nor the publisher guarantees, warrants, or endorses any product or service advertised in the journal, nor do they guarantee any claim made by the manufacturer of such product or service.

Cover letter

Any material that could constitute prior or concurrent publication of similar data by any one of the authors should be submitted with the manuscript. Such material includes symposium proceedings, book chapters, invited papers, and the like.

Authors may suggest the names of reviewers whose expertise qualifies them to review the work. Any reviewers the authors wish to exclude may be listed along with the reason for exclusion. While all suggestions will be considered, the final choice of reviewers rests with the Editor or responsible Associate Editor.

It is assumed that the corresponding author speaks for his or her coauthors and certifies that all listed authors participated meaningfully in the study and that they have seen and approved the final manuscript. The letter should describe any commercial affiliation or consultancy of

an author that could be construed as a conflict of interest with respect to the submitted data. If the Editor finds that such activities raise the appearance of a conflict, he may recommend disclosure in a footnote. Otherwise, the information will remain confidential.

Organization of the manuscript

Manuscripts describing original research should contain (in this order) a title page, a footnote page, an abstract, an introductory statement (without heading), a description of experimental procedures or methods, the results, a discussion and, on separate pages, a list of references, figure legends, and tables. Authors have the option of combining the results and discussion and are encouraged to do so for short manuscripts.

Hard copy versions should be double-spaced throughout, including the footnote page, list of references, figure legends, and tables. All pages must be numbered in the upper right-hand corner, starting with the title page. The version on disk should contain identical information.

Original manuscripts must be no longer than 4,000 words (excluding references) and include no more than 50 references. Manuscripts that are redundant or contain extraneous material will be returned for shortening, even if otherwise acceptable. Concise Reviews should be no longer than 3,500 words and the reference list need not be exhaustive.

It is expected that submitted Case Reports will include a detailed analysis of the case and a review of the available literature. Only those case reports which are truly original and are likely to significantly influence medical practice are likely to be considered for publication. Others may be considered for publication in an abbreviated form as a letter to the editor.

Letters to the editor which comment on articles recently published in **THE ANNALS OF HEPATOLOGY** are invited. Brief case reports or new findings may also be submitted and include a single supporting illustration. Letters should be double-spaced and less than 2 pages in length.

Title page

Provide a concise title of not more than 100 characters, not including spaces between words. In the case of work with experimental animals, indicate the species used. List the full names of the author(s). Indicate the institutional affiliation. In a multi-authored work involving more than a single institution, indicate individual affiliation by means of a superscript Arabic number. Indicate a change of address similarly. Provide a list of up to 5 key words that do not appear in the title itself.

Footnote page

List footnotes to the title page. Provide the contact information for the author to whom proofs should be sent (name, address, telephone number, fax number, and e-mail address). List abbreviations used with the expansions in the order of their mention in the paper. Finally, list grants and other financial support on this page.

Abstract

Abstracts should be continuous text organized as background and rationale for the study, main results, and conclusions. The total length should not exceed 250 words. The last section of the abstract should start with "In conclusion."

Introduction

Provide the minimum background information that will orient the general reader. Do not engage in a literature review.

Experimental Procedures

Provide a level of detail such that another investigator could repeat the work; for methods that are used without significant modification, citation of the original work will suffice.

Human subjects. For reports of research using human subjects, provide assurance that (a) informed consent in writing was obtained from each patient and (b) the study protocol conformed to the ethical guide-

lines of the 1975 Declaration of Helsinki as reflected in a priori approval by the appropriate institutional review committee. Refer to individual patients by number, not by initials.

Animal experimentation. In studies involving animal experimentation, provide assurance that all animals received humane care according to the criteria outlined in the "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" prepared by the National Academy of Sciences and published by the National Institutes of Health (NIH publication 86-23 revised 1985).

Genetic sequence data. In papers reporting a novel DNA or amino acid sequence, verify that the data have been or will be submitted either to GenBank or EMBL, and provide the accession number. This information need not accompany the initially submitted manuscript but must be available for inclusion in the final publication. Accession numbers appear as footnotes to the text or in the relevant figure legend. It is understood that authors publishing in *ANNALS OF HEPATOLOGY* will make cloned DNA, hybridomas, mutant animals, and other resources available to qualified investigators.

Include the names and locations (city and state or country) of manufacturers when mentioning proprietary drugs, tools, instruments, software, etc.

Statistics. Identify and provide references for the statistical methods used. The legends of figures and tables should specify the number of observations and whether estimates of variance are SD or SE.

Results and Discussion

Present the major findings of the study in graphic form if practicable. Do not illustrate minor details if their message is conveyed adequately by simple descriptive text. Mention all tables and figures. In the discussion, concisely present the implications of the new findings for the field as a whole, minimizing reiteration of the results, avoiding repetition of material in the introduction, and keeping a close focus on the specific topic of the paper.

Acknowledgment

Acknowledge personal assistance and providers of special reagents. Note that grant and other financial support is listed on the footnote page, not here.

References

Number references in the order cited as Arabic numerals in parentheses on the line. Only literature that is published or in press (with the name of the publication known) may be numbered and listed; abstracts and letters to the editor may be cited, but they must be less than 3 years old and identified as such. Refer to only in the text, in parentheses, other material (manuscript submitted, unpublished data, personal communication, and the like) as in the following example: (Chercheur X, unpublished data). If the owner of the unpublished data or personal communication is not an author of the manuscript under review, a signed statement is required verifying the accuracy of the attributed information and agreement to its publication. Do not use Endnote or other word processing tools that may embed references in code. Type reference numbers in parentheses within the text and type out the reference list as normal text at the end of the manuscript.

Use *Index Medicus* as the style guide for references and other journal abbreviations. List all authors up to seven, using seven and "et al." when the number is greater than seven.

Articles in journals

Miquel JF, Covarrubias C, Villaroel L, Mingrone G, Greco AV, Puglielli L, Carvallo P, et al. Genetic epidemiology of cholesterol cholelithiasis among Chilean Hispanics, Amerindians, and Maoris. *Gastroenterology* 1998;115:937-46

Books

2. Watson JD. *The Double Helix*. New York: Atheneum, 1968:1-6.

Book chapters

3. Hofmann AF: The enterohepatic circulation of bile acids in health and disease. In: Sleisinger MH, Fordtran JS, eds. *Gastrointestinal Disease*. Volume 1. 5th ed. Philadelphia: Saunders, 1993:127-150.

Permissions

Direct quotations, tables, or illustrations taken from copyrighted material must be accompanied by written permission for their use from the publisher and the original author. A standard permission request form is included in this section. The permission is presented as a footnote or addition to the legend and must provide complete information as to source. Photographs of identifiable persons must be accompanied by a signed release that indicates informed consent.

Abbreviations

Standard abbreviations not requiring definition can be found in the American medical Association Manual of Style. Do not abbreviate otherwise unless a term is used more than five times in the manuscript. In this case, the abbreviation should be spelled out, in parentheses, in its first use in the text and also listed on the footnote page (see previous page). Abbreviations used in figures or tables should be defined in the legend. Express temperatures as degrees Celsius and other measurements in SI units.

Drug names

Use generic names. The proprietary name may be mentioned in parentheses with the name and location (city and state or country) of the manufacturer.

Tables

Prepare tables on individual sheets of paper, double spaced and numbered consecutively with Arabic numerals in the order of their appearance in the text. Do not duplicate material presented in a figure.

Figure legends

Number figures with Arabic numerals in the order mentioned in the text. Provide a title (this should not appear on the figure itself) and sufficient explanation to render the figure intelligible without reference to the text. Explain all abbreviations and symbols. For any copyrighted material, indicate that permission has been obtained (see Permissions, above). Type figure legends consecutively on a separate sheet of paper.

Figures

The journal requires four sets of figures. Mark the back of each figure in pencil with the figure number, its orientation, and the name of the first author. Multipart figures for use by reviewers may be mounted. Do not use paper clips, ink, or other handling that could damage the figures. Photocopies of material other than photomicrographs are acceptable for review purposes if they convey the intended information; it is the author's responsibility to ensure that such material is adequate for review. Figures will be printed as a width of one column (9 cm), two columns (18 cm), or one and a half columns (13.5 cm). Letters and symbols should be sized such that after reduction (if necessary) the smallest lettering will be at least 1.5 mm and the symbols at least 1 mm. Place the unmounted, best-quality set in an envelope labeled "for publication."

Black and white. Provide clean laser prints of black and white drawings and high-contrast glossy 18-cm-wide photographs of all half-tone figures, e.g. photomicrographs, gels, etc. Manually typed or handwritten material is not acceptable.

Color. Provide glossy prints in which lettering and symbols are clearly visible against the background. Authors are charged for color figures, the cost being approximately \$750 for the first page (whole or partial). The publisher will provide a cost estimate once a manuscript has been accepted. If an author is unable to support this charge and the use of color is deemed essential for accurately presenting the data, appeal for a cost reduction may be made to the Editor.

Digital figures. Refer to the Specifications for Supplying Digital Artwork page in this section for instructions on supplying digital figures.

Cover photograph. Authors with accepted manuscripts (or accepted pending minor revision) may submit artwork for consideration for the cover. The material may be different from the figures used in the article but should represent its content. Single slides or color photographs are preferred, and multiple examples may be submitted. Individual

photographs should be trimmed to 21 × 28 cm (width × height) for production as is, and they should be accompanied by a four- to five-word caption and a two-sentence legend. Authors are not charged for a cover photograph.

Copyright permission request form

From: _____ Date: _____

Dear Permission Editor/Author:

I am preparing for publication an article entitled:
to be published in _____

I hereby request your permission for the nonexclusive right to reprint the following material:

Author/Editor:
Title of article or book:
Year of Publication:
Journal, Volume, and Issue (if applicable):
Material to be reproduced:
Page number(s) it appeared on:

Permission is sought to reprint the above material in all forms and media now and hereafter known, in all languages, throughout the world and to license such rights to others.

Sincerely yours,

I/We hereby grant permission to reprint the material(s) as provided above:

Signed:

Copyright assignment, authorship responsibility, financial disclosure, and institutional review board/animal care committee approval

Article title:

Copyright Assignment. In consideration of the MEXICAN ASSOCIATION OF HEPATOLOGY (MAH) taking action to review and edit my submission, the undersigned authors, jointly and severally, hereby transfer, convey, and assign all right, title, and interest therein, including any and all copyrights in all forms and media now or hereafter known, to the AMH. The authors retain the nonexclusive right to use all or part of the Article in future works of their own in a noncompeting way, provided proper copyright credit is given to the Association. Should the MAH not publish the aforesaid submission, the MAH agrees to release its rights therein. (Note: material prepared by employees of the federal government in their official duties may not be copyrightable.) No guarantee is made that the Article will be published.

Authorship Responsibility. I, the undersigned author, certify that I have participated sufficiently in the intellectual content, the analysis of data, if applicable, and the writing of the Article, to take public responsibility for it. I have reviewed the final version of the Article, believe it represents valid work, and approve it for publication. As an author of this Article, I certify that none of the material in the manuscript has been published previously, is included in another manuscript, or is currently under consideration for publication elsewhere. I also certify that the Article has not been accepted for publication elsewhere, nor have I assigned any right or interest in the Article to any third party.

Financial Disclosure. I, the undersigned author, certify that I have no commercial associations (e.g., consultancies, stock ownership, equity interests, patent-licensing arrangements) that might pose a conflict of interest in connection with the submitted Article, except as disclosed on a separate attachment. All funding sources supporting the work and all institutional or corporate affiliations of mine are acknowledged in a footnote.

Institutional Review Board/Animal Care Committee Approval. I, the undersigned author, certify that my institution has approved the protocol for any investigation involving humans or animals and that all experimentation was conducted in conformity with ethical and humane principles of research.

Each author must sign and date this statement. In the case of a work made for hire, the employer must also sign.

Author Signature	Date
Author Signature	Date
Author Signature	Date
Author Signature	Date
Author Signature	Date
Author Signature	Date
Author Signature	Date
Author Signature	Date
Employer signature (required for works made for hire):	
Signature	Date

Address manuscripts to:
Nahum Méndez-Sánchez, M.D., PhD
Editor, ANNALS OF HEPATOLOGY
Puente de Piedra 150, Colonia Toriello Guerra
CP 14040, Mexico, D.F., MEXICO

Author's diskette description form

SUBMISSION OF THE MANUSCRIPT ON DISKETTE

(include this form with the materials submitted)

Manuscript Title:

Author(s):

Operating System:

Windows 3× Windows 95 Windows NT MacIntosh OS/2

Other: _____ PC compatible?
yes/no

Software Used:

Name and version:

File name:

General Requirements:

The disk copy must match exactly the hard copy of the manuscript except for Figures, which are submitted separately as described above. Use 3½" diskettes only.

Most word-processing formats are acceptable (Microsoft Word, WordPerfect); Microsoft Word is preferred. If the program used is non-standard, the material should be provided also in text format on a separate disk, marked as "text file".

Include the manuscript title and author name(s) on the diskette label.

File Organization and Formatting:

All components of the manuscript excluding figures must appear within a single electronic file, on a single disk (do not include multiple files or backup versions of the file). Digital figures should be submitted on a separate disk in accordance with the "Specifications for Supplying Digital Artwork" outlined in this section.

Typographical formatting (column widths, type styles, etc.) will be

handled by the publisher. Do not use this type of formatting.

Editorial formatting (use of italics, superscripts, Greek letters, etc.) may be included in the disk file.

The coding scheme for such elements must be consistent throughout the file.

Text Style:

Type text flush left (do not indent paragraphs). Use two carriage returns at the end of a paragraph to separate it from the one that follows.

Enter only one space between words and after sentences. Use 1 carriage return ("hard return") only after a heading and use 2 carriage returns at the end of a paragraph. Allow line breaks within a paragraph to be determined automatically by the word-processing program. If it is necessary to force the end of a line within a paragraph, use the program's "soft return" feature.

Do not use the program's indenting or margin-setting features. (These will be added during typesetting.)

NOTE: The diskette version of the manuscript must be identical to the submitted hard copy (free of handwritten editorial alterations).

Specifications for supplying digital artwork

In an effort to provide the printing operation with the highest quality films and/or digital files, W.B. Saunders (WBS) recommends the following guidelines for supplying digital artwork. Note that hard copies of all artwork must accompany the digital file.

Transportable Media

WBS is able to receive files from various media types. It is important to send clearly labeled media listing the job name, contact person, project name, date, and number of diskettes or cartridges (ie, 1 of 3, 2 of 3, 3 of 3). It is also helpful to WBS to know which programs, versions, platforms, and operating systems were used to generate the files being supplied. WBS has the ability to receive digital files from the following list of media types; however, we are constantly acquiring new media types as technologies change. Please consult the Manager of Journals Production if you have questions concerning media types.

3.5-in Diskette
4-mm DAT Tape
100-mb Iomega Zip Disk
44-mb SyQuest Disk
88-mb SyQuest Disk
200-mb SyQuest Disk
270-mb SyQuest Disk
Re-Writable Magneto-Optical
CD-ROM
1 GB Iomega Jaz Disk
2 GB Iomega Jaz Disk

Black and White Line Art

Black and White (B/W) line art can exist in two basic types: pixel-based or vector-based. All pixel-based line art is typically generated by scanning the image with either a flatbed or drum scanner to produce a raster image of the original. Vector-based line art is generated using a drawing program such as Freehand or Illustrator.

Black and White Halftones

Color Artwork

WBS recommends that all artwork be provided as EPS or TIFF files. Files should be converted from RGB to CMYK. The finished resolution should be 300 dpi. A color proof must accompany all files.

Scaling, Cropping, Rotating

Scaling, cropping, and rotating should be performed in the origi-

nating application. Although WBS can make these adjustments before and during page processing, it should be understood that to accomplish this we will incur added expense and may experience a loss of quality.

Originating Applications

WBS has the experience of working with graphic files that have been generated from many different originating applications. Although most of this experience has been successful, there have been occasions when files will not process. In part, this inability to process has been due to the type of file being written from the originating application. Some applications do a very good job of generating digital files, and some do not. In the case of pixel-based graphics, we have determined that Adobe Photoshop sets the standard for smooth-running files; therefore, we recommend its use. For vector-based graphics, WBS recommends the use of either Adobe Illustrator or Macromedia's Freehand. We recommend always creating your graphics in one of these applications and then importing them into your page applications as TIFFs with all fonts included.

Note that the following file formats are not acceptable for printing as they are low resolution: Powerpoint, JPG, GIF, ONG, PCX, PNG, XBM, Word, Excel.

AUTHOR'S CHECKLIST

- A completed checklist must accompany the manuscript. Failure to comply with directions may result in delay in review of your manuscript.
- Eliminate nonstandard abbreviations in titles.
- Supply full author names.
- Indicate institutional affiliations clearly.
- Identify corresponding author and supply accurate address, telephone number, fax number, and e-mail address, if available.
- Include written permission for any borrowed or modified figures or tables from the author and copyright holder.
- Make sure abstract does not exceed 250 words.
- Do not cite references, tables, or figures in the abstract.
- Supply statement in the "Materials and Methods" section regarding consent of human subjects and approval by ethics committee. If animals are used in experiments, use and indicate National Institutes of Health guidelines, U.S.A.
- Make sure text is clear, easy to follow, and legible.
- Make sure English is grammatically correct and idiomatic.
- Supply full manufacturer names and addresses (city and state or country) for all brand name products used in experiments.
- Supply references in the style of the journal: authors (first seven names before the use of et al), title, journal, year, volume, and pages. Punctuation should follow ANNALS OF HEPATOLOGY style.
- Check that references are accurate and cited in the text in numerical order.
- Supply tables on separate pages; they should read vertically when possible and should have headings for each column.
- Cite tables in the text in numerical order. Use arabic numerals, not roman numerals
- Do not cite materials submitted but not yet accepted for publication as references. Instead, cite in text.
- Make sure figures are of good quality, either camera-ready or of glossy-photo type. Do not send mounted figures, except for color figures. If digital figures are used, they should be submitted on a separate disk from the text.
- Label each figure on its back and included the first author's last name, manuscript number, and figure number. Please indicate the top of the figure.
- Send figures in a protective envelope. DO NOT use clips on figures.
- List figure legends as a group in a section after the text.
- Cite figures in the text in numerical order.
- Include Author's Checklist and signed Copyright Assignment form with manuscript submission.
- Please enclose diskette together with the Author's Diskette Description form on the reverse side of this page.

ANEXO 2

PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão
Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos

CERTIFICADO Nº 1840

O Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPSH) da Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão da Universidade Federal de Santa Catarina, instituído pela PORTARIA N.º 0584-GR/99 de 04 de novembro de 1999, com base nas normas para a constituição e funcionamento do CEPSH, considerando o contido no Regimento Interno do CEPSH, **CERTIFICA** que os procedimentos que envolvem seres humanos no projeto de pesquisa abaixo especificado estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP.

APROVADO

PROCESSO: 1840 **FR:** 400399

TÍTULO: AVALIAÇÃO DE TESTES SANGUÍNEOS SIMPLES COMO MARCADORES NÃO INVASIVOS DE FIBROSE HEPÁTICA EM PORTADORES DE HEPATITES VIRAIS

AUTOR: Leonardo de Lucca Schiavon, Janaína Luz Narciso Schiavon, Esther B. Dantas Correa, Thabata Glenda Fenili Amorim

FLORIANÓPOLIS, 28 de Março de 2011.

Coordenador do CEPSH UFSC