

HEPATITE NÃO-A, NÃO-B: HEPATITE C*

MIGUEL CARNEIRO DE MOURA

Serviço de Gastreenterologia, Faculdade de Medicina de Lisboa, Lisboa.

RESUMO

A hepatite não-A, não-B (NANB), quer associada à transfusão de sangue e derivados ou a que ocorre esporadicamente, complica-se em cerca de 50% dos casos pelo desenvolvimento da hepatite crónica. Uma observação consistente entre os vários autores é a progressão incidiosa destes casos para cirrose. Entre os doentes com hepatite crónica NANB seguidos até 10 anos a cirrose hepática demonstra-se em aproximadamente 20%. Em Maio de 1988, Houghton e colaboradores da Chiron Corp. identificaram o agente principal da hepatite NANB associada ao sangue. O vírus da *hepatite C* (VHC) é um vírus RNA, de cadeia simples, de 10000 nucleótidos e que tem semelhanças com os flavivirus. Foi identificado desenvolvendo de uma forma engenhosa uma biblioteca de DNA complementar a partir do material genético contido numa amostra de plasma de um chimpanzé portador de NANB e localizando depois um clone que produzia uma proteína específica do vírus. A evidência serológica da infecção pelo VHC encontra-se em 60-90% dos casos de hepatite NANB associada a transfusões e em 50% dos casos esporádicos. O anticorpo contra o VHC (anti-VHC) detecta-se em 30% da hepatite crónica B, em 10-46% da cirrose alcoólica, em 40-70% dos casos de carcinoma hepatocelular AgHBs negativo e em 0-83% dos doentes com hepatite crónica activa auto-imune. São necessários testes para o antígeno do VHC que requerem tecnologias mais sensíveis do que os imuno-ensaios correntes, como a reacção em cadeia da polimerase. A introdução de um teste de despiste do anti-VHC nos Serviços de Sangue deve reduzir o risco da hepatite NANB associada às transfusões e é actualmente recomendada.

SUMMARY

Non-A, non-B hepatitis: Hepatitis C

Non-A, non-B hepatitis (NANB), whether following the transfusion of blood products or occurring sporadically without percutaneous exposure, is complicated in approximately 50% of cases by the development of chronic hepatitis. Emerging as a consistent observation is the insidious progression of such cases of chronic NANB hepatitis to cirrhosis. Among patients with chronic NANB hepatitis followed for up to 10 years, cirrhosis is demonstrable in 20%. In May, 1988, the identification of the agent of NANB hepatitis was described by Houghton and colleagues of the Chiron Corporation. *Hepatitis C*, a 10,000 nucleotide single-stranded RNA virus with properties similar to those of flavivirus, was identified by developing a cDNA library from the genetic material in a chimpanzee inoculum of high infectivity and locating a clone which elaborated a virus-specific protein. Serologic evidence for HCV infection can be detected in 60-90% of cases of transfusion-associated hepatitis and 50% of cases of sporadic NANB hepatitis. Antibody to HCV (anti-HCV) can be detected in 30% of chronic hepatitis B, in 10-46% of alcoholic cirrhosis, in 40-70% of cases of hepatocellular carcinoma HBsAg negative and in 0-83% of patients with auto-immune chronic active hepatitis. Assays for HCV antigen will require technology more sensitive such than current immunoassays, such as the polymerase chain reaction. The introduction into blood banks of a screening test for anti-HCV is expected to reduce the risk of transfusion-associated NANB hepatitis and is highly recommended.

DEFINIÇÃO

O diagnóstico da hepatite não-A, não-B (NANB) é ainda impreciso e baseia-se na exclusão clínica das outras causas de necrose hepatocelular e na exclusão serológica dos vírus hepatotrópicos conhecidos, em especial o vírus da hepatite B (VHB), o vírus da hepatite A (VHA) e o citomegalovírus. É possível que um certo número de casos da hepatite NANB representem infecções crípticas pelo VHB nas quais não se expressa o AgHBs, o anti-HBc e o anti-HBs, mas se demonstra o DNA do VHB no soro ou no fígado¹⁻³. A contribuição relativa do VHB ou das suas variantes para o total de casos da hepatite NANB não é conhecida, mas tudo leva a crer que representa uma minoria de casos.

O termo vírus da hepatite C (VHC) tem sido ultimamente utilizado para designar um agente vírico, de pequenas dimensões, que de uma forma reprodutível induz hepatite em chimpanzés, caracterizada pela presença no fígado de ultra-estruturas tubulares^{4,5}. Este agente, que parece correspon-

der ao agente da hepatite NANB clássica, é o que foi clonado pelos investigadores da Chiron Corporation^{5,6}. O termo VHC deve ser usado exclusivamente para designar este agente, que provavelmente representa o principal, senão o único agente da hepatite NANB.

As formas epidémicas da hepatite dita NANB, que resultaram em extensas e graves epidemias de hepatite principalmente na Índia e na América do Sul, estão relacionadas com um agente que se transmite entericamente e que é distinto serologicamente do VHA^{7,8}. Estes casos podem ser hoje bem definidos e são diferentes clínica, epidemiológica e serologicamente da hepatite NANB, classicamente associada às transfusões do sangue e derivados. Esta nova entidade já não deve ser designada de hepatite NANB, e para ela foi proposto o termo de hepatite por vírus E (HVE).

IMPORTÂNCIA DO PROBLEMA

Na sequência da publicação de Feinstone e colaboradores que descreveram de forma exemplar a hepatite NANB após transfusão de sangue, vários estudos prospectivos indicaram

* Apresentado na Sociedade Portuguesa de Gastreenterologia em 12 de Fevereiro de 1990.

uma frequência de 10% para esta hepatite associada às transfusões de sangue, variando entre 7% e 12%¹⁰. Os trabalhos mais recentes sugerem que a frequência actual seja mais baixa, entre 4 e 6%, como resultado da implementação em larga escala das medidas destinadas a reduzir o risco da transmissão do vírus da imunodeficiência humana (VIH) pelas transfusões.

A hepatite aguda NANB tem habitualmente uma apresentação clínica discreta, mas cedo se observou que aproximadamente 50% dos casos mantinham uma elevação persistente das transaminases séricas. Nos casos de hepatite crónica NANB associados a transfusões, a biopsia hepática mostrava alterações histopatológicas compatíveis com hepatite crónica activa, em 3/4 dos casos. Em alguns casos a doença era rapidamente progressiva e em cerca de 10% dos doentes na primeira biopsia existia já cirrose¹⁰. Mesmo os casos de hepatite crónica NANB com alterações bioquímicas ligeiras podem ter uma progressão incidirosa para cirrose. Entre os diferentes investigadores começou a surgir a noção de que a progressão insidiosa para cirrose era mais frequente do que inicialmente se pensava e talvez até mais frequente que nos casos de hepatite crónica B. Numa revisão recente, a cirrose hepática encontra-se em 20% dos doentes com hepatite crónica NANB seguidos de 5 a 10 anos. Esta parece ser uma observação consistente mesmo em doentes que podem estar assintomáticos e que apresentam alterações mínimas das transaminases.

Os trabalhos iniciais sugeriam que esta elevada percentagem de progressão para cirrose se confinava aos doentes com hepatite associada às transfusões e outros tipos de contágio percutâneo; contudo os estudos mais recentes sobre os casos ditos esporádicos indicam que também nesta situação a progressão para a cronicidade é muito frequente¹⁰.

Estimativa do Problema em Portugal

As estatísticas mais recentes do Instituto Nacional do Sangue (Carvalho Santos, comunicação pessoal) indicam a realização de cerca de 250.000 transfusões de sangue por ano.

Aceitando uma extrapolação dos dados norte-americanos sobre a hepatite NANB, pode calcular-se que na sequência destas transfusões de sangue e produtos hemáticos, ocorrem 5% de casos de hepatite aguda NANB, ou seja 12.500 casos por ano. Destes 50%, 6.250 vão apresentar uma evolução crónica, com persistência de transaminases elevadas. É calculada portanto uma progressão para cirrose hepática, num intervalo entre 5-10 anos, em 20%, o que representa 1250 doentes. São números importantes, e que dão bem a ideia da extensão e importância do problema.

Para o Hospital de Santa Maria, onde se fazem cerca de 20.000 transfusões de sangue por ano, as estimativas serão de 1.000 casos de hepatite aguda NANB, 500 doentes com evolução para crónica e uma evolução para cirrose em 100.

IDENTIFICAÇÃO DO AGENTE DA HEPATITE NÃO-A, NÃO-B

Muitos artigos apareceram na literatura médica propondo testes serológicos ou descrevendo partículas víricas associadas à hepatite NANB, mas até 1989, as tentativas de validação e/ou confirmação falharam sempre¹⁻³. Os ensaios para marcadores do agente da hepatite NANB quando submetidos a testes de validação, falhavam em distinguir sob código, entre amostras de soro identificadas como infecciosas para a hepatite NANB, amostras negativas e soros controles, incluídos num conhecido painel preparado no NIH.

Em Maio de 1988, Houghton e colaboradores trabalhando na Chiron Corporation em Emeryville, na Califórnia, des-

creveram a identificação do agente da hepatite NANB transmitida pelo sangue^{5,6}. Este trabalho demonstra de uma forma exemplar a aplicação do engenho e da moderna tecnologia da biologia molecular à solução de um problema que se revelava aparentemente insolúvel até então. Os investigadores partiram de uma amostra de plasma de um chimpanzé portador da hepatite NANB conhecido pela sua alta infeciosidade (título superior a 10^6 comparado com valores inferiores a 10^3 na maioria dos inocula). Extraíram todo o ácido nucleico num *pellet* obtido a partir de grandes volumes deste plasma e obtiveram DNA complementar (DNAc) a partir do RNA e do DNA de cadeia simples (Fig. 1).

Construíram depois uma biblioteca de DNAc inserindo pedaços do DNAc (genoma do NANB?) num fago gt-11, usado como vector de expressão para infectar a *E. coli*. Os clones obtidos foram transferidos para papel de filtro e os investigadores usaram soro convalescente de hepatite NANB (e que admitiram contivesse anticorpos contra o agente da hepatite NANB) para identificar proteínas específicas do vírus elaboradas pelos produtos de translação destes clones.

Foram identificados alguns clones que reagem com os soros NANB e não com os controles apropriados. Um clone de DNAc (de 155 pares de bases) produzia uma proteína que reagia especificamente com o anticorpo do soro convalescente mas não com soro pré-hepatite. A subsequente amplificação dos clones reactivos e a sua expressão em leveduras permitiu obter quantidades suficientes de antígeno que serviriam de base para a construção de um teste serológico para anticorpo⁶.

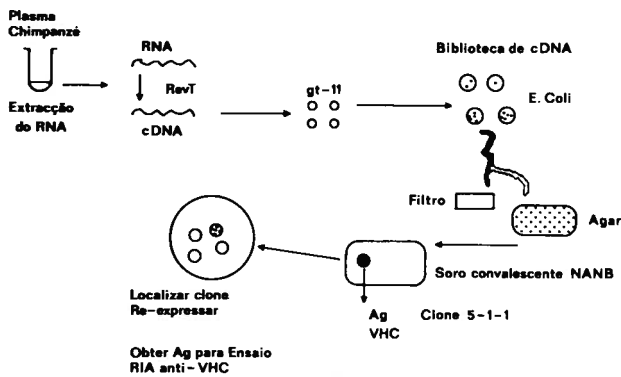
O vírus da hepatite C é um vírus RNA, com um genoma RNA linear, de única cadeia e com um comprimento aproximado de 10 Kilobases. Tem propriedades semelhantes às dos flavivírus, que pertencem ao grupo B dos arborvírus (onde se incluem o vírus da febre amarela e o vírus do dengue). Só foi identificada uma única entrada de leitura o que sugere que se forma uma grande poliproteína, que depois se divide pós-translação. Este vírus não apresenta homologia genómica com os retrovírus, o VHB, o vírus da hepatite delta (VHD) ou outros agentes víricos conhecidos. O anticorpo contra o VHC aparece em circulação tardiamente, entre um a três meses depois do início da doença aguda, mas em casos raros pode demorar um ano. A antigenemia parece ser tão limitada que o antígeno associado ao vírus circulante está abaixo dos limites de detecção dos ensaios convencionais. Os ensaios para demonstrar o antígeno do VHC vão exigir o recurso a tecnologias mais sensíveis, como a reacção em cadeia pela polimerase.

Este novo teste serológico, um teste para detecção de anticorpo anti-VHC, respondeu decisivamente às provas de validação. O ensaio (RIA e ELISA) distinguiu sob código as amostras de casos infecciosos e bem demonstrados de hepatite NANB e os controles apropriados. No clássico painel do NIH, o ensaio da Chiron identificou 3/3 amostras de doentes com hepatite crónica NANB pós-transfusão e 3/3 amostras de dadores de sangue implicados na transmissão de hepatite NANB (ambos os grupos com infeciosidade comprovada em chimpanzés) o teste foi negativo em 5 dadores normais verificadamente não infecciosos e em 2 controles com outras doenças hepáticas.

O teste foi negativo em amostras iniciais de 2 doentes com hepatite aguda NANB; amostras posteriores revelaram-se positivas. Noutros estudos, usando igualmente doentes estudados no NIH, o ensaio demonstrou ser específico e de uma sensibilidade quase perfeita (Alter, comunicação pessoal).

ESTUDOS SERO-EPIDEMIOLÓGICOS

O anticorpo anti-VHC encontra-se em 60-90% dos casos de hepatite NANB associada a transfusões e em 50% dos



Houghton et al
Chiron Corp USA

casos de hepatite NANB esporádica. Nos doadores de sangue voluntários o anticorpo detecta-se em cerca de 1%, com uma variação entre 0.7 e 1.5%. Nos casos de hepatite crônica NANB associada a transfusões o anti-VHC demonstra-se em cerca de 80% dos doentes¹⁰⁻¹².

A frequência do anticorpo anti-VHC em doentes com hepatite aguda NANB auto-limitada é nitidamente inferior, aproximadamente 20-40%, possivelmente porque as amostras de sangue estudadas foram colhidas antes de decorrer o tempo suficiente para aparecer o anticorpo.

Os hemofílicos multitransfundidos têm uma elevada prevalência do anticorpo anti-VHC, aproximadamente 75%. Do mesmo modo aparecem elevadas frequências em populações com um contacto frequente com o sangue, como os toxicómanos, onde as prevalências ultrapassam os 70% na maioria das séries.

PAPEL DO VÍRUS DA HEPATITE C NA DOENÇA HEPÁTICA CRÔNICA

O anticorpo anti-VHC encontra-se em cerca de 80% dos doentes com hepatite crônica NANB associada a transfusões de sangue. A evidência serológica da infecção pelo VHC ocorre em 20-30% dos casos de hepatite crônica B, mas raramente em doentes com cirrose biliar primária¹⁰⁻¹⁵.

Os primeiros resultados em Portugal, de 195 doentes com hepatite crônica, confirmada histologicamente e com follow-up superior a 1 ano, da Unidade de Hepatologia do Hospital de Santa Maria, estão resumidos no Quadro 1. No nosso material, 74% dos doentes com hepatite crônica NANB têm anti-VHC, em contraste com 30% na hepatite crônica B¹⁶. Os doentes com hepatite crônica delta tem uma frequência elevada de anti-VHC (74%) mas são na sua quase totalidade toxicómanos e a nossa experiência nesse grupo de risco é também de valores elevados de anti-VHC (71-85%). Na hepatite crônica auto-imune, a percentagem anti-VHC é de 83%, o que corresponde à experiência de outros centros¹². O pequeno número de casos estudados obriga a um certo cuidado nesta avaliação: é possível que a infecção pelo VHC, à semelhança do delta, induza o aparecimento de certos auto-anticorpos. Na cirrose e hepatite crônica criptogénica o anti-VHC encontra-se em 36%, valor semelhante ao da doença hepática alcoólica. Em 35 doentes com doença hepática alcoólica encontramos anti-VHC em 32%.

No carcinoma hepatocelular os resultados não são ainda definitivos, mas em certas séries o anticorpo demonstra-se

QUADRO 1 — Prevalência de Anticorpos Anti-VHC em Doentes com Hepatite Crônica em Portugal

	N.º Anti-VHC+ vo
Hepatite crônica NANB	27
Hepatite crônica autoimune	20 (74%)
Hepatite crônica B AgHBs+	6
Hepatite crônica Delta	5 (83%)
Cirrose hepática criptogénica	119
	36 (30%)
	35
	26 (74%)
	14
	5 (36%)

em 70-80% dos casos sem marcadores do VHB^{18,19}. No nosso material, referente a 52 casos de carcinoma hepatocelular, a percentagem mais elevada foi nos casos sem AgHBs, mas com anti-HBc (Quadro 2).

A correcta interpretação destes resultados e o papel do VHC na patogenia de certas formas de hepatite crônica e no carcinoma hepatocelular aguarda mais informação e o recurso a tecnologia mais sensível, como a demonstração do RNA do VHC no fígado²⁰.

QUADRO 2 — Prevalência de Anticorpos Anti-VHC em Doentes com Carcinoma Hepatocelular em Portugal

	N.º Anti-VHC+ vo
Carcinoma Hepatocelular (CHC) AgHBs+	27
CHC AgHBs-vo, antiHBc+	8 (38%)
CHC sem marcadores VHB	18
	13 (73%)
	13
	3 (23%)

IMPACTO COMO MARCADOR SEROLÓGICO E DESPISTE DOS PORTADORES

Os trabalhos mais recentes indicam que a introdução das medidas para reduzir o risco de SIDA das transfusões de sangue, em especial a insistência em doadores voluntários e a detecção do anti-VIH, tiveram o efeito de baixar a frequência da hepatite NANB. É previsível que a introdução nos Serviços de Sangue do teste de despiste do anti-VHC venha a reduzir ainda mais o risco da hepatite NANB pós-transfusão.

É importante assinalar que os chamados testes auxiliares (*surrogate assays*) para evitar a hepatite NANB, como a detecção do anti-HBc e a determinação das transaminases séricas, têm igualmente um efeito na redução da hepatite NANB. Cerca de 50% dos doadores com um destes testes positivos têm anti-VHC¹⁰. Quanto mais elevado for o valor das transaminases, maior a probabilidade de se encontrar o anti-VHC, e a frequência do anti-VHC é ainda maior nos doadores que têm simultaneamente as transaminases elevadas e são positivos para o anti-HBc.

Como a pesquisa do anti-VHC pode ser negativa durante um a três meses, ou mais, depois da hepatite aguda C, existe um chamado período de janela no qual um dador com hepatite aguda NANB assintomática pode dar sangue sem ser despistado. O desenvolvimento de testes mais sensíveis para o anticorpo anti-VHC ou o uso de novas tecnologias para pesquisar o antígeno do VHC (como o *immunoblot* e a reacção em cadeia pela polimerase) podem no futuro vir a reduzir ou eliminar este intervalo de risco.

Apesar dos inconvenientes apontados, a adição de um teste específico para o VHC ao painel de despiste de rotina

dos Bancos de Sangue vai seguramente contribuir para que a transfusão de sangue deixe de ser um veículo para a transmissão das hepatite víricas. O desenvolvimento de testes para anticorpos e antígenos do VHC vai permitir o estudo da história natural e da epidemiologia de um grupo de doenças hepáticas crônicas até ao momento sem perspectivas terapêuticas e ou preventivas.

BIBLIOGRAFIA

1. DIENSTAG J.L.: Non-A, non-B hepatitis: I. Recognition, epidemiology, and clinical features. *Gastroenterology* 1983; 85: 439-62.
2. DIENSTAG J.L.: Non-A, non-B hepatitis: II. Experimental transmission, putative virus agents and markers, and prevention. *Gastroenterology* 1983; 85: 743-68.
3. DIENSTAG J.L., ALTER H.J.: Non-A, non-B hepatitis: evolving epidemiologic and clinical perspectives. *Semin Liver Dis* 1986; 6: 67-81.
4. SHIMIZU Y.K., FEINSTONE S.M., PURCELL R.H., ALTER H.J., LONDON W.T.: Non-A, non-B hepatitis. Ultrastructural evidence for two agents in experimentally infected chimpanzees. *Science* 1979; 205: 197-200.
5. CHOO Q.L., KUO G., WEINER A.J., OVERBY L.R., BRADLEY D.W., HOUGHTON M.: Isolation of a cDNA clone derived from a blood borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244: 359-62.
6. KUO G., CHOO Q.L., ALTER H.J., et al.: An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 1989; 244: 362-4.
7. WONG D.C., PURCELL R.H., SREENIVASAN M.A., et al.: Epidemic and endemic hepatitis in India: evidence for a non-A, non-B hepatitis virus etiology. *Lancet* 1980; ii: 876-9.
8. RAMALINGASWAMI V., PURCELL R.H.: Waterborne non-A, non-B hepatitis. *Lancet* 1988; i: 571-3.
9. FEINSTONE S.M., KAPIKIAN A.Z., PURCELL R.H., et al.: Transfusion-associated hepatitis not due to hepatitis type A or B. *N Engl J Med* 1975; 292: 767-70.
10. ALTER M.J.: Non-A, non-B hepatitis: sorting through a diagnosis of exclusion. *Ann Intern Med* 1989; 110: 583-5.
11. ESTEBAN J.I., ESTEBAN R., VILADOMIU L., et al.: Hepatitis C virus antibodies among high risk groups in Spain. *Lancet* 1989; ii: 294-97.
12. ALTER H.J., PURCELL R.H., SHIH J.W., 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; 321: 1494-500.
13. VAN DER POEL C.L., REESINK H.W., LELIE P.N., et al.: Anti-hepatitis C antibodies and non-A, non-B post-transfusion hepatitis in the Netherlands. *Lancet* 1989; ii: 294-6.
14. ROGGENDORF M., DEINHARDT F., RASSHOFER R., et al.: Antibodies to hepatitis C virus. *Lancet* 1989; ii: 324-25.
15. BRUIX J., BARRERA J.M., CALVET X., et al.: Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in spanish patients with hepatocellular carcinoma and hepatic cirrhosis. *Lancet* 1989; ii: 1004-6.
16. VELOSA J., CARNEIRO DE MOURA M., RAMALHO F., et al.: Anticorpos anti-VHC em doentes com hepatite crónica e carcinoma hepatocelular. *Revista de Gastrenterologia*. 1990 em publicação.
17. LENZI M., BALLARDINI G., FUSCONI M., et al.: Type-2 autoimmune hepatitis and hepatitis C virus infection. *Lancet* 1990; 335: 258-9.
18. COLOMBO M., KUO G., CHOO Q.L., DONATO M.F., et al.: Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in italian patients with hepatocellular carcinoma. *Lancet* 1989; ii: 1006-8.
19. TREMOLADA F. et al.: Antibody to hepatitis C virus in hepatocellular carcinoma. *Lancet* 1990; 335: 300-301.
20. WEINER A.J., KUO G., BRADLEY D.W., et al.: Detection of hepatitis C viral sequences in non-A, non-B hepatitis. *Lancet* 1990; 335: 1-3.

Pedido de Separatas:
Miguel Carneiro de Moura
Serviço de Medicina 2
Hospital de Santa Maria
1600 Lisboa