

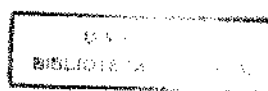
ROZANGELA MARIA DE ALMEIDA FERNANDES WYSZOMIRSKA

**Determinação sérica de marcadores
de fibrose hepática em portadores de
esquistossomose mansoni: avaliação
de colágeno tipo IV e laminina**

Campinas

1999

328.4166



UNIDADE	BC
Nº CHAMADA:	
	38203
	229/99
	0 [X]
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	07/08/99
Nº CPO	

CM-00125560-4

ROZANGELA MARIA DE ALMEIDA FERNANDES WYSZOMIRSKA

Determinação sérica de marcadores de fibrose hepática em portadores de esquistossomose mansoni: avaliação de colágeno tipo IV e laminina

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina, área de Medicina Interna da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em Medicina, na área de Medicina Interna.

Campinas

1999

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

W996d

Wyszomirska, Rozangela Maria de Almeida Fernandes

Determinação sérica de marcadores de fibrose hepática em portadores de esquistossomose mansoni: avaliação de colágeno tipo IV e laminina / Rozangela Maria de Almeida Fernandes Wyszomirska. Campinas , SP : [s.n.], 1999.

Orientador: Elza Cotrim Soares

Tese (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

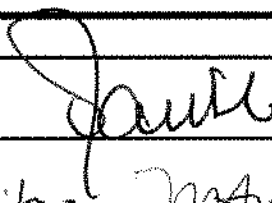
1. Matriz extracelular. 2. Fígado—doenças. 3. Esquistossomose.

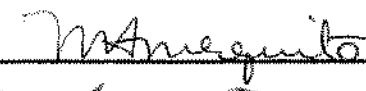
I. Elza Cotrim Soares. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

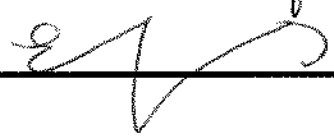
Banca examinadora da tese de Mestrado

Orientador: Profa. Dra. Elza Cotrim soares

Membros:

1. Prof. Dr. Edison Roberto Parise - 

2. Profa. Dra. Maria Aparecida Mesquita - 

3. Prof. Dra. Elza Cotrim Soares - 

Curso de pós – graduação Medicina, área Medicina Interna da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data:

15/04/99

**Aos meus filhos Djalma,
Ignez e Lygia, queridos
companheiros de
jornada, dedico esse
estudo.**

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Ademar Yamanaka, ao Dr. Jason Romilson de Souza Almeida e ao Dr. Marcelo Eduardo Miguez de Oliveira, pela amizade e contribuição na realização dos exames de ultra-sonografia.

À Profa. Dra. Maria Aparecida Mesquita e à Dra. Sonia Letícia Lorena, pela inestimável amizade, companheirismo e pela colaboração na triagem de indivíduos para o grupo controle.

Ao Dr. Antonio De Biase Wyszomirski, por ter compreendido a importância da realização deste estudo na minha vida.

Ao Laboratório de Hepatologia do Gastrocentro, em especial a Nancy Fusae Nishimura, a Natalícia Hifumi Hara e a Derci Lopes Ricci, pela colaboração na realização de exames laboratoriais.

Às estatísticas Cleide Moreira Silva e Luzane Leão Baia, Comissão de Pesquisa – Estatística, pela atenção no atendimento, clareza e objetividade na concretização dos dados.

À Universidade Federal de Alagoas, por ter permitido o meu afastamento para a realização deste estudo.

Aos amigos e colegas do Departamento de Clínica Médica e Departamento de Propedêutica Médica, da Universidade Federal de Alagoas, pela compreensão, amizade e carinho, durante todo o período de meu afastamento.

À Dra. Celina Maria Costa Lacet, querida amiga, pela ajuda na elaboração do projeto inicial da tese, pelo incentivo e por ainda acreditar em sonhos.

Aos colegas da diretoria da Unimed – Maceió, por terem permitido meu afastamento para a realização deste estudo.

À bibliotecária Sandra Lúcia Pereira e aos demais funcionários da Biblioteca, pela ajuda na revisão bibliográfica.

Ao Laboratório de Patologia Clínica do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, pela contribuição na realização de exames laboratoriais e na triagem de pacientes portadores de esquistossomose mansoni.

Aos professores e funcionários da disciplina de Gastroenterologia da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, que participaram direta ou indiretamente na realização deste estudo.

Ao Coordenador da sub - comissão de Pós – graduação em Clínica Médica, Prof. Dr. José Antonio Rocha Gontijo, pela contribuição na aquisição dos kits utilizados neste estudo.

Aos funcionários do Centro de Saúde de Barão Geraldo e do Centro de Saúde Santa Mônica, pela contribuição na triagem de pacientes para o estudo.

Aos colegas médicos e funcionários do serviço de Endoscopia digestiva do Gastrocentro pela cooperação na realização de exames.

Aos residentes da Gastro, demais funcionários do Gastrocentro e do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, pela contribuição na realização deste estudo.

Ao Prof. Dr. Edison Roberto Parise, pela cooperação na interpretação dos dados estatísticos.

Ao Projeto JICA (Japan International Cooperation Agency), que nos forneceu os equipamentos utilizados na realização do estudo.

Aos funcionários do serviço de apoio didático da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, que gentilmente colaboraram com a correção da tese, confecção de posters para congressos e slides.

À CAPES, por ter financiado parcialmente este trabalho através de bolsa de estudo.

Aos indivíduos que participaram deste estudo, pela ajuda e paciência, minha gratidão.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À Profa. Dra. Elza Cotrim Soares, orientadora dessa tese, pela amizade, incentivo, carinho e pelo exemplo como profissional e ser humano digno.

Ao Prof. Dr. Tetsu Shimabukuro, Prof. convidado do Gastrocentro, por seu empenho pessoal na aquisição dos kits provenientes do Japão, sem os quais este estudo não poderia ter sido realizado.

À Nancy Fusae Nishimura por ter contribuído, através de amizades pessoais, na aquisição dos kits provenientes do Japão, e também pela contribuição na interpretação dos dados estatísticos, elaboração de trabalhos científicos e na redação final da tese.

À meus pais, Djalma e Inês, e a minha irmã Angela, presentes que a vida me deu e que foram os responsáveis pela minha formação profissional e pessoal.

Aos meus filhos Djalma, Ignez e Lygia, pela compreensão e paciência com a minha ausência, pelo companheirismo e, fundamentalmente, por terem iluminado minha vida. À Ignez, pela ajuda na digitação da tese, confecção de gráficos e pelo exemplo de vida, ao ultrapassar barreiras com alegria e amor.

**"De todas as minhas vaidades no mundo, uma há que me agrada,
porque não é vaidade. É ver minha alma escondida, fazendo o
Inteligente dançar".**

Mário de Andrade

SUMÁRIO

RESUMO.....	<i>i</i>
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Patogenia da esquistossomose mansoni.....	4
1.2. Componentes da matriz extracelular.....	7
1.3. Distribuição hepática de componentes da matriz extracelular.....	10
1.4. Diagnóstico da fibrose hepática e detecção de componentes da MEC.....	14
1.5. Marcadores séricos de fibrose hepática.....	16
2. OBJETIVOS.....	20
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	22
3.1. Critérios de inclusão.....	23
3.2. Critérios de exclusão.....	24
3.3. Critérios para o diagnóstico de esquistossomose mansoni.....	24
3.4. Distribuição dos pacientes por forma clínica.....	25
3.5. Exames laboratoriais.....	26
3.6. Endoscopia digestiva alta.....	26
3.7. Ultra-sonografia de abdome superior.....	27
3.8. Determinação de colágeno tipo IV.....	32
3.9. Determinação de laminina.....	35
3.10. Análises estatísticas.....	38
3.10.1. Comparação múltipla.....	38
3.10.2. Coeficiente de correlação linear.....	39
3.10.3. Ponto de corte.....	39
4. RESULTADOS.....	40

4.1. Exames laboratoriais.....	41
4.2. Endoscopia digestiva.....	43
4.3. Resultados de ultra-sonografia.....	44
4.4. Análise de colágeno tipo IV.....	47
4.5. Análise de laminina.....	49
4.6. Comparações múltiplas.....	51
4.6.1. Comparação entre medidas do espessamento periportal.....	51
4.6.2. Comparação entre média de valores de colágeno tipo IV.....	52
4.6.3. Comparação entre média de valores de laminina.....	53
4.7. Análise de correlação linear.....	55
4.7.1. Correlação entre espessamento periportal e média de valores de colágeno tipo IV.....	55
4.7.2. Correlação entre espessamento periportal e média de valores de laminina.....	58
4.7.3. Correlação entre média de valores de colágeno tipo IV e média de valores de laminina.....	62
4.8. Ponto de corte.....	66
4.8.1. Ponto de corte para colágeno tipo IV.....	66
4.8.2. Ponto de corte para laminina.....	67
5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	68
6. CONCLUSÃO.....	76
7. SUMMARY.....	79
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81
9. ANEXOS.....	94

LISTA DE ABREVIATURAS:

ALT:	aminotransferase da alanina
Anti-HBc	anticorpo contra o <i>core</i> do vírus da hepatite B
Anti-HBs	anticorpo contra antígeno de superfície da hepatite B
Anti-HCV	anticorpo contra o vírus da hepatite C
AST	aminotransferase do aspartato
EIA	exame imunoenzimático
EM	esquistossomose mansoni
FA	fosfatase alcalina
HI	forma hepatointestinal da esquistossomose mansoni
FI	forma intestinal da esquistossomose mansoni
GGT	gamaglutamil transpeptidase
HbsAg	antígeno de superfície do vírus da hepatite B
HEC	forma hepatoesplênica compensada da esquistossomose mansoni
HED	forma hepatoesplênica descompensada da esquistossomose mansoni
MB	membrana basal
MEC	matriz extracelular
OMS	Organização Mundial de Saúde
PICP	colágeno I
PIINP	procolágeno III
RIA	radioimunoensaio

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Espessamento periportal grau 0, detectado através de ultra-sonografia em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.....	29
Figura 2:	Espessamento periportal grau I, detectado através de ultra-sonografia em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.....	29
Figura 3:	Espessamento periportal grau II, detectado através de ultra-sonografia em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.....	30
Figura 4:	Espessamento periportal grau III, detectado através de ultra-sonografia em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.....	30
Figura 5:	Curva padrão de colágeno tipo IV.....	35
Figura 6:	Curva padrão de laminina.....	38
Figura 7:	Dispersão do espessamento periportal em relação à média de valores de colágeno tipo IV em pacientes portadores da forma intestinal da esquistossomose mansoni.....	56
Figura 8:	Dispersão do espessamento periportal em relação à média de valores de colágeno tipo IV em pacientes portadores da forma hepatointestinal da esquistossomose mansoni	57
Figura 9:	Dispersão do espessamento periportal em relação à média de valores de colágeno tipo IV em pacientes portadores da forma hepatoesplênica compensada da esquistossomose mansoni	58
Figura 10:	Dispersão do espessamento periportal em relação à média de valores de colágeno tipo IV em pacientes portadores da forma hepatoesplênica descompensada da esquistossomose mansoni	59

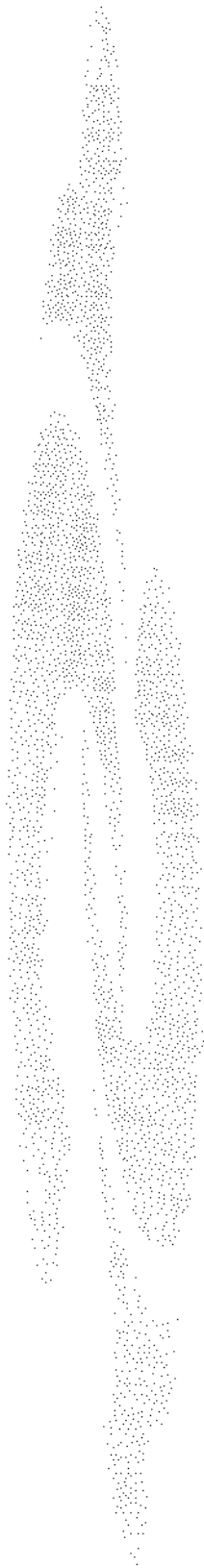
Figura 11: Dispersão do espessamento periportal em relação à média de valores de laminina em pacientes portadores da forma intestinal da esquistossomose mansonii.....	60
Figura 12: Dispersão do espessamento periportal em relação à média de valores de laminina em pacientes portadores da forma hepatointestinal da esquistossomose mansonii.....	61
Figura 13 Dispersão do espessamento periportal em relação à média de valores de laminina em pacientes portadores da forma hepatoesplênica compensada da esquistossomose mansonii.....	62
Figura 14: Dispersão do espessamento periportal em relação à média de valores de laminina em pacientes portadores da forma hepatoesplênica descompensada da esquistossomose mansonii.....	62
Figura 15: Dispersão da concentração de colágeno tipo IV em relação à concentração de laminina em pacientes portadores de esquistossomose mansonii.....	64
Figura 16: Dispersão da concentração de colágeno tipo IV em relação à concentração de laminina em pacientes portadores da forma clínica intestinal da esquistossomose mansonii.....	64
Figura 17: Dispersão da concentração de colágeno tipo IV em relação à concentração de laminina em pacientes portadores da forma clínica hepatointestinal da esquistossomose mansonii.....	65
Figura 18: Dispersão da concentração de colágeno tipo IV em relação à concentração de laminina em pacientes portadores da forma clínica hepatoesplênica compensada da esquistossomose mansonii.....	65

Figura 19: Dispersão da concentração de colágeno tipo IV em relação à concentração de laminina em pacientes portadores da forma clínica hepatoesplênica descompensada da esquistossomose mansoni.....	66
Figura 20: Dispersão da concentração de colágeno tipo IV em relação à concentração de laminina em controles.....	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Estadiamento da esquistossomose mansoni baseado em achados de ultra-sonografia.....	32
Tabela 2:	Valores da curva padrão de colágeno tipo IV.....	34
Tabela 3:	Valores da curva padrão da laminina.....	37
Tabela 4:	Resultados de aminotransferase da alanina (ALT) e do aspartato (AST), contagem de plaquetas (PLQ) e de leucócitos (LEUC), em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.....	41
Tabela 5:	Resultados de uréia e creatinina (CREAT) em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.....	42
Tabela 6:	Resultados de gamaglutamil transpeptidase (GGT), fosfatase alcalina (FA) e albumina (ALB), em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.....	42
Tabela 7:	Resultados de bilirrubina direta (BD), RNI e hemoglobina (Hbg) em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.....	43
Tabela 8:	Resultados do grau de varizes esofágicas em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.....	44
Tabela 9:	Resultados das medidas de espessamento periportal em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.....	45
Tabela 10:	Resultados de ultra-sonografia em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.....	46
Tabela 11:	Estadiamento da esquistossomose mansoni através de ultra-sonografia em relação à forma clínica.....	47
Tabela 12:	Resultados da determinação de colágeno tipo IV em controles e em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.....	48

Tabela 13: Resultados da determinação de laminina em controles e em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.....	50
Tabela 14: Comparação entre médias de medidas do espessamento periportal em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.....	51
Tabela 15: Comparação entre médias dos valores de colágeno tipo IV na esquistossomose mansoni e em suas formas clínicas, em relação aos controles.....	52
Tabela 16: Comparação entre médias dos valores de colágeno tipo IV nas diversas formas clínicas da esquistossomose mansoni.....	53
Tabela 17: Comparação entre médias de valores de laminina na esquistossomose mansoni e em suas formas clínicas, em relação aos controles.....	54
Tabela 18: Comparação entre médias de valores de laminina nas diversas formas clínicas da esquistossomose mansoni.....	55
Tabela 19: Correlação entre medidas de espessamento periportal e médias de valores de colágeno tipo IV em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.....	56
Tabela 20: Correlação entre medidas de espessamento periportal e médias de valores de laminina em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.....	60
Tabela 21: Correlação entre médias de valores de colágeno tipo IV e médias de valores de laminina em pacientes portadores de esquistossomose mansoni e em suas formas clínicas.....	63
Tabela 22: Ponto de corte para colágeno tipo IV.....	67
Tabela 23: Ponto de corte para laminina.....	67



RESUMO

Com o objetivo de avaliar a fibrose hepática na esquistossomose mansoni foram medidos os níveis séricos de colágeno tipo IV e de laminina, principais componentes da membrana basal. Foram estudados 82 indivíduos, sendo 64 pacientes portadores de esquistossomose mansoni e 18 indivíduos normais, como controle. As diferentes formas clínicas de esquistossomose encontradas foram 18 pacientes com forma intestinal, 17 com forma hepatointestinal, 12 com forma hepatoesplênica compensada e 17 com forma hepatoesplênica descompensada.

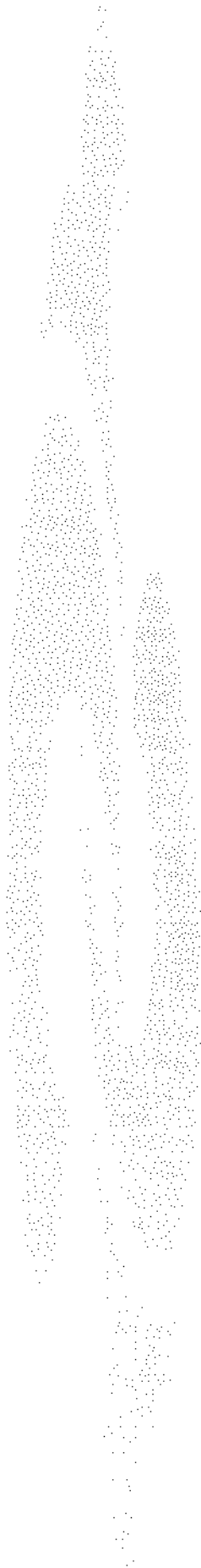
Em todos os pacientes foram realizados testes de função hepática, sorologia para vírus de hepatite B e C, endoscopia digestiva e ultra-sonografia de abdome , além de determinação sérica de colágeno tipo IV e laminina. A ultra-sonografia foi realizada segundo o protocolo da Organização Mundial de Saúde proposto para este fim. As determinações de colágeno tipo IV e de laminina foram realizadas através do método imunoenzimático (EIA), tipo sanduíche, usando dois anticorpos monoclonais com os kits Panassay IV – C e hLM, respectivamente.

Os valores médios de colágeno tipo IV na esquistossomose foram de $92,34 \pm 54,37 \text{ ng/ml}$, havendo um aumento do mesmo em todas as formas clínicas, sendo esta elevação significativa nas formas hepatointestinal e hepatoesplênica descompensada em relação aos controles ($p < 0,05$).

O valor médio de laminina foi de $367,30 \pm 112,64 \text{ ng/ml}$, havendo um aumento em todas as formas clínicas, sendo este aumento significativo nas formas hepatointestinal, hepatoesplênica compensada e descompensada em relação aos controles ($p < 0,05$).

Comparando-se os valores obtidos nas diversas formas clínicas entre si, houve um aumento significativo entre as formas hepatoesplênica descompensada e intestinal, tanto para a determinação de colágeno tipo IV, como para a laminina ($p < 0,05$). Na forma hepatoesplênica descompensada não houve diferença significativa quando comparados os níveis médios de colágeno tipo IV e laminina entre pacientes esplenectomizados e não esplenectomizados ($p > 0,05$). Não foi encontrada correlação ($p > 0,05$) entre os valores médios de colágeno tipo IV e laminina com o grau de espessamento periportal, detectado por ultra-sonografia.

Os resultados mostram que existe um aumento de produção de colágeno tipo IV e laminina na esquistossomose, surgindo altos níveis desde as fases iniciais do envolvimento hepático da doença, sugerindo que a fibrose perissinusoidal e inclusive a capilarização de sinusóide podem ocorrer precocemente nesta doença. Os resultados também sugerem que os altos níveis de colágeno tipo IV e laminina encontrados estão relacionados a alterações do fígado, sem que haja interferência do baço.



1. INTRODUÇÃO

A fibrose hepática representa um importante e freqüente fenômeno nas doenças crônicas do fígado. Seu estudo recebe atenção especial pelo fato de ser encontrada em doenças endêmicas, como a esquistossomose mansoni (EM), na cirrose pós hepatite viral e na doença alcoólica do fígado, além de outras; como também pelas dificuldades encontradas até o momento na prevenção, remoção e prognóstico do processo fibrótico. É caracterizada por um aumento progressivo na quantidade normal do tecido conjuntivo hepático, que é formado pelo aumento na deposição de componentes da matriz extracelular (MEC) (Rojkind & Pérez - Tamayo, 1983; Bissel, 1990; Bissel *et al.*, 1990; Burt, 1993; Clément *et al.*, 1993).

Em princípio, a fibrose hepática ocorre em três localizações: em torno dos hepatócitos, dos ductos biliares e no espaço porta (Popper & Udenfriend, 1970).

A fibrose em torno de hepatócitos e de ductos, encontrada na cirrose hepática, forma septos que podem conectar espaço porta com espaço porta e veia central, com formação de nódulos de regeneração. A capilarização sinusoidal ocorre com freqüência caracterizada pela perda das fenestrações da membrana basal, levando o citoplasma das células adjacentes a se encaixarem, formando fortes junções. Ocorre também um aumento de colágeno tipo IV e laminina no espaço de Disse, tornando-se este um espaço denso e extenso. A formação dessa membrana contínua impede a circulação sangüínea no fígado, a junção hepatocelular e as trocas sangüíneas. A consequência de todo esse processo é uma completa transformação da arquitetura hepática (Popper & Udenfriend, 1970; Andrade, 1991; Griffiths, Keir, Burt, 1991; Nakayama *et al.*, 1991; Gabrielli & Corrocher, 1991; Martinez-Hernandez & Amenta, 1993b).

A fibrose portal, encontrada na EM, desenvolve-se como resultado da interrupção do fluxo sangüíneo intra - hepático, tendo como principal consequência a hipertensão portal pré - sinusoidal. Em geral, não ocorrem maiores distorções da arquitetura lobular do fígado, advindos muitos problemas da fibrose instalada (Coutinho, 1968; Grimaud & Borojevic, 1977) ou pela ocorrência concomitante de outros estados patológicos como a desnutrição, as infecções virais que afetam o fígado e a alta incidência de outras infestações parasitárias (Bolarin & Phil, 1991; Coutinho & Domingues, 1993).

A EM é a mais importante doença fibrótica do fígado, no mundo, afetando mais de 100 milhões de pessoas (Coutinho & Domingues, 1993). Uma vez iniciado o envolvimento hepático, observa-se a existência de uma fase granulomatosa, e uma segunda fase, fibrótica (Bolarin & Phil, 1991). Nessas fases ocorre um acúmulo de componentes da MEC (Grimaud *et al.*, 1987; El Meneza *et al.*, 1989; Bolarin & Phil, 1991), levando à formação de um extenso tecido conjuntivo e reação sinusoidal (Canto, Sesso, De Brito, 1977).

O tecido conjuntivo é formado por componentes de MEC que se encontram distribuídos no fígado, principalmente no espaço porta, na membrana basal (MB) dos vasos, nos sinusóides e no espaço de Disse (Martinez - Hernandez & Amenta, 1993a, 1993b). Esses componentes são sintetizados por células mesenquimais, encontradas no espaço perissinusoidal. Essas células são conhecidas como lipócitos, células de Ito, ou “stellate” (Friedman *et al.*, 1992), sendo células com um citoplasma lipídico, tendo como principal função o estoque de vitamina A (Tsutsumi *et al.*, 1988; Lóreal *et al.*, 1991; Friedman *et al.*, 1992; Júnior, Pfeifer, Andrade, 1993; Burt, 1993). Após estímulo inflamatório, essas células são capazes de se transformar em células semelhantes à miofibroblastos, passando a sintetizar uma maior quantidade de componentes da MEC (Friedman *et al.*, 1992; Andus & Holstege, 1994). Além das células de Ito, outros tipos de células são produtoras de componentes da MEC no fígado normal: as células do ducto biliar e as células endoteliais (Clément *et al.*, 1988; Burt, 1993), existindo ainda evidências de que os hepatócitos possam produzir alguns desses componentes (Tseng, Smuckler, Stern, 1983; Clément *et al.*, 1986; Tsutsumi *et al.*, 1988; Clément *et al.*, 1988; Burt, 1993; Clément *et al.*, 1993; Lóreal *et al.*, 1993).

O colágeno é o principal componente da MEC encontrado no processo fibrótico. Dos colágenos, o procolágeno III tem sido o mais estudado até o momento. O colágeno tipo IV e a laminina são encontrados em todas as MB dos vasos, nos sinusóides hepáticos e nos ductos biliares (Gabrielli & Corrocher, 1991).

Nas últimas décadas, vários estudos têm sido realizados visando conhecer melhor os mecanismos envolvidos na fibrose hepática, investigando componentes de MEC, os mecanismos envolvidos na síntese e degradação desses componentes e o papel de

citocinas. Vários modelos experimentais (Tsukamoto, Matsuoka, French, 1990) têm sido usados nesses estudos, com muitos progressos em aspectos moleculares que são observados na fibrose hepática. Com base nos achados desses estudos experimentais, os objetivos que vêm sendo explorados, usando modelos clínicos, são a procura de marcadores séricos para detecção de alterações no metabolismo dos componentes de MEC e a descoberta de drogas que possam prevenir e (ou) remover a fibrose.

O exame ideal para o diagnóstico da fibrose hepática deveria ser eficiente, de fácil execução e ser bem tolerado pelos pacientes, além de baixo custo. Estudos têm sido realizados à procura de um teste sérico ideal, investigando-se componentes da MEC, citocinas e enzimas envolvidas na síntese e degradação dos componentes. O colágeno tipo III e seus produtos têm sido os mais estudados até o momento. O colágeno tipo IV e a laminina têm sido investigados em estudos sobre alterações em nível de sinusóides hepáticos, sendo que a laminina tem sido considerada como marcador de MB (Gabrielli & Corrocher, 1991).

Baseados nesse princípios, realizamos esse trabalho, usando como modelo clínico de fibrose portal, pacientes portadores de EM, objetivando medir os níveis séricos de colágeno tipo IV e laminina, usando kits para realização de exames por método imunoenzimático (EIA), além das prováveis correlações desses níveis séricos com a evolução para fibrose e a capilarização sinusoidal.

1.1. PATOGENIA DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI

A esquistossomose mansoni é a mais importante doença fibrótica do fígado, no mundo. No Brasil constitui-se em um dos mais relevantes problemas de saúde pública, em razão de sua presença em extensas áreas do território brasileiro, um grande número de doentes e a existência de formas graves que evoluem com hipertensão portal (Coutinho, 1968; Andrade *et al.*, 1992; Coutinho & Domingues, 1993). Após se tornar adulto, o verme feminino inicia sua oviposição nos vasos mesentéricos do hospedeiro e alguns ovos são

carreados pelo fluxo portal para áreas perissinusoidais, provocando reações de hipersensibilidade (Coutinho & Domingues, 1993).

Em geral, classifica-se a doença em fase aguda, que passa despercebida, e fase crônica. Nesta, a evolução clínica vai desde formas leves, com pacientes na sua maioria assintomáticos, ou que apresentam manifestações gastrintestinais, (formas intestinal e hepatointestinal), até infestações maciças, em virtude da alta carga parasitária ou de freqüentes reinfestações, que resultam na forma hepatoesplênica, com maior ou menor gravidade. Nesta última forma, aparecem a fibrose periportal, a obstrução intra-hepática da porta e a hipertensão portal pré - sinusoidal, numa incidência menor que 5% do total de infectados (Coutinho, 1968; Coutinho & Domingues, 1993). Assim, o equilíbrio fisiológico do fígado na EM é frágil e susceptível à rápida descompensação (Grimaud & Borojevic, 1977), havendo, entretanto, a possibilidade de regressão ou involução do quadro clínico, espontaneamente, ou induzida pelo tratamento da verminose (Andrade & Grimaud, 1988; Zwingenberger *et al.*, 1990; Kresina *et al.*, 1994).

Em estudo realizado em humanos, El-Mohandes *et al.*, (1987) através de biópsia hepática, classificaram a fibrose periportal da EM em:

- Fibrose hepática esquistossomótica grau I - cortes efetuados mostram ovos de *Schistosoma mansoni*, tendo em torno de si tecido granulomatoso, que consiste de linfócitos, eosinófilos e histiócitos. Observou-se ainda leve espessamento portal com infiltrado celular discreto.

- Fibrose hepática esquistossomótica grau II – os cortes mostram espessamento do trato portal com fibrose e infiltrado celular moderado. Os ovos de *Schistosoma mansoni* são envolvidos por granuloma fibrocelular e (ou) hiperplasia de células de Kupffer, com pigmentação.

- Fibrose hepática esquistossomótica grau III - intenso espessamento portal com proliferação da fibrose e mínimo infiltrado celular, e poucas células com ovos de *Schistosoma* ou pigmentação.

Em outros estudos, realizados com ratos infestados por *Schistosoma mansoni*, os achados histológicos do fígado foram semelhantes. Além da formação dos granulomas, verificaram-se tromboflebite portal, fibrose periportal e septal. Os granulomas formavam-se em torno dos ovos, durante a infecção. Na quarta semana após a infecção, os ovos maduros foram vistos com o início de reação tecidual, infiltração, polimorfonucleares, fibroblastos e deposição de colágeno, sem sinais de lesão hepatocítica. Após seis a oito semanas da infecção, foi vista necrose central em granulomas ocasionais, enquanto o centro do granuloma não necrótico estava preenchido por uma massa de histiócitos epitelióide, circundado por um colar de células, predominando linfócitos e células plasmáticas. Grandes linfócitos e linfoblastos estavam presentes em número pequeno. A inflamação do trato portal foi mais proeminente na região adjacente ao granuloma, predominando células plasmáticas e linfócitos, apesar da presença de um moderado número de polimorfonucleares. Após 16 semanas, houve redução do granuloma e observou-se um fino e condensado feixe de colágeno (Wyler *et al.*, 1981; Grimaud *et al.*, 1987; Bolarin & Phil, 1991). Observaram-se ainda células perissinusoidais acumuladas em grande número, nos granulomas periportais, por mecanismo ainda desconhecido (Júnior *et al.*, 1993).

No granuloma hepático, foram detectados por imunofluorescência, colágeno tipo III, na forma de procolágeno, o colágeno tipo I e a fibronectina, ao passo que o colágeno tipo IV e a laminina foram encontrados em pequena quantidade, nos vasos neo formados, na periferia do granuloma (Parise *et al.*, 1985; ; Grimaud *et al.*, 1987; Andrade & Grimaud, 1988). Também foram detectados, na periferia, glicosaminoglicanos (Andrade *et al.*, 1992; Silva, 1994). Nos granulomas colônicos, o colágeno tipo IV e a laminina foram detectados, em quantidades mínimas, talvez porque na lesão colônica não ocorra progressiva vascularização (Grimaud *et al.*, 1987).

O tecido fibroso formado em área septal e portal exhibe densidade variável (Bolarin & Phil, 1991; Andrade *et al.*, 1992). Além disso, no fígado esquistossomótico, observaram - se hipertrofia dos sinusóides e hiperplasia de células de Kupffer e de células endoteliais. O espaço perissinusoidal, que normalmente contém pouco colágeno, exhibe na EM, finas tiras de microfibrilas de colágeno. Esse espaço está aumentado e elementos

extracelulares foram observados em associação com tiras de colágeno ou linha de material granular (Canto *et al.*, 1977; Grimaud & Borojevic, 1977).

A fibrose periportal, no estágio final da doença, pode levar a um quadro irreversível, em virtude do alto grau de ligação entre as fibrilas de colágeno, e ao fato de que, em granulomas velhos, a fibrose, descrita como placas em tom branco nacarado, típicas da EM (pipe-stem), oferece maior resistência à degradação e remoção do colágeno. No tecido fibroso, foram detectadas presenças de colágeno tipo I e procolágeno III, havendo uma predominância de colágeno tipo I. A proporção entre o colágeno tipo I e o procolágeno tipo III, que no fígado normal é em torno de 1, torna-se maior que 1 (El Meneza *et al.*, 1989; Andrade *et al.*, 1992). O colágeno tipo IV e a laminina foram encontrados em quantidades reduzidas no tecido fibroso, ao passo que na MB de vasos e ductos biliares, foram detectados em maior quantidade (Andrade *et al.*, 1992).

Na EM, não foi vista uma capilarização de sinusóides hepáticos típica, mas, em algumas áreas, observou-se uma fina membrana descontínua, fazendo um agregado de filamentos, sugerindo a capilarização. Acredita-se que, inicialmente ocorra um aumento do número de células perissinusoidais, particularmente na região centrolobular. Fibras reticulínicas são observadas ao longo de sinusóides e, mais tarde, detectadas através do lóbulo. Observou-se ainda que a obstrução de ramos portais é a principal causa da hipertensão portal e que a marcada redução no fluxo portal é compensada por um aumento do fluxo arterial para o fígado (Canto *et al.*, 1977; Grimaud & Borojevic, 1977). Em um dos trabalhos, os autores (Canto *et al.*, 1977) concluíram que uma progressiva reação sinusoidal ocorre na EM, com fibrose perissinusoidal, sendo, portanto, adicionado um outro elemento (pressão sinusoidal) na patogenia da hipertensão portal pré - sinusoidal.

1.2. COMPONENTES DA MATRIZ EXTRACELULAR

Já foram identificadas três classes de macromoléculas entre os componentes da MEC: colágeno, glicoproteínas e proteoglicanos (Rojkind & Pérez-Tamayo, 1983; Burt, 1993; Martinez-Hernandez, 1993a). Atualmente essas classes são acrescidas de mais

grupos, além dos já citados: elastina e fibras elásticas (Kleman, Giry-Lozingue, Van der Rest, 1995).

Colágenos - O conteúdo de colágeno total do fígado varia em diferentes espécies animais. É o maior constituinte da MEC, formando uma estrutura de sustentação. Até o momento são conhecidos de 13 a 19 tipos de colágenos, os quais são subdivididos no mínimo em quatro grupos, de acordo com sua capacidade para construir fibrilas: colágeno fibrilar, laminar (colágeno em forma de lâminas), filamentar (em forma de contas) e fibrilas - associadas (Bissel et al., 1990; Martinez-Hernandez & Amenta, 1993a; Kleman *et al.*, 1995). No homem, cada colágeno é composto de cadeias de subunidades de polipeptídeos, diferindo na seqüência de aminoácidos e pela presença de uma hélice tríplice. Possuem regiões precursoras específicas, que são chamadas propeptídeos, e diferentes terminais, conhecidos como amino e carbóxi terminais, que têm diferentes efeitos no padrão de formação e no diâmetro da fibrila. Essas regiões são relativamente volumosas, tendo um domínio globular (Bissel *et al.*, 1990).

Os colágenos mais encontrados no fígado são tipo I, III, IV e V. O colágeno tipo III forma ligações cruzadas com dissulfídeos, correspondendo à boa parte das fibras reticulares dos tecidos. Forma fibras finas, estando presente como procolágeno, sendo abundante em tecidos embrionários e em tecidos moles como vasos, útero, septo alveolar e trato gastrointestinal, diminuindo com a idade (Rojkind & Pérez-Tamayo, 1983). O colágeno tipo IV possui um especializado sistema ultra - estrutural, sendo composto de duas cadeias $\alpha 1$ e $\alpha 2$. Foi o primeiro colágeno a ser detectado na MB, sendo o principal colágeno dessa membrana (Martinez-Hernandez & Amenta, 1993a; Levavasseur *et al.*, 1995). As suas moléculas juntam-se em uma cadeia flexível do terminal amino, com terminal carbóxi, formando propeptídeos. Essas cadeias protegem todos os outros componentes da MB, incluindo laminina e perlecano e, deste modo, estabilizam as moléculas (Levavasseur *et al.*, 1995). Em adição, tem sido demonstrado que muitas células epiteliais e mesenquimais podem interagir com colágeno tipo IV, provavelmente através de receptores específicos, conhecidos como integrins, que são heterodímeros e pertencem a classe de moléculas que produzem adesão celular.

As glicoproteínas - A função dessas moléculas consiste em sua habilidade para produzir atividade de ligação, interagindo com outros constituintes da matriz durante a montagem e modelação da MEC via receptores.

As principais glicoproteínas são: laminina, entactina e fibronectina.

A laminina é uma glicoproteína grande, constituída de três subunidades em forma de cruz. São formadas por quatro polipeptídeos, chamados alfa, beta e gama (A, B1, B2 e γ) (Bissel *et al.*, 1990; Levavasseur *et al.*, 1995). A laminina é a mais abundante e melhor caracterizada glicoproteína não colágeno da MB, tendo sido encontrada em todas as membranas basais estudadas (Laurie, Leblond, Martin, 1982; Martinez-Hernandez & Amenta, 1993a; Levavasseur *et al.*, 1995).

Entactina, também conhecida como nidogeno, tem uma molécula firme, não tendo interação com tiras de laminina. Fibronectina é uma proteína de alto peso molecular e é produzida em várias formas, sendo um tipo solúvel no plasma e outra insolúvel (forma celular). Possui muitos domínios estruturais, que podem ligar-se com muitas outras macromoléculas e células. Na região perissinusoidal pode estar associada ao colágeno tipo III e está ausente na matriz intersticial da árvore portal (Rojkind & Pérez-Tamayo, 1983; Martinez-Hernandez & Amenta, 1993a).

Os proteoglicanos- são um grupo heterogêneo de proteínas, contendo um número variável de glicosaminoglicano em cada cadeia, ligados por uma proteína (Martinez-Hernandez & Amenta, 1993a; Silva, 1994). A classificação dos proteoglicanos é baseada no dissacarídeo predominante: sulfato de condroitina, sulfato dermatico , sulfato queratínico, sulfato de heparano e ácido hialurônico. Estão presentes em todos as matrizes de tecido conjuntivo, incluindo as matrizes intersticial e MB, onde interagem com colágeno e elastina, determinando algumas propriedades biomecânicas dos tecidos (Bissel *et al.*, 1990; Silva, 1994). São encontrados no granuloma esquistossomótico.(Silva, 1994).

1.3. DISTRIBUIÇÃO HEPÁTICA DE COMPONENTES DA MATRIZ EXTRACELULAR

A distribuição hepática de componentes da MEC tem características próprias, não sendo uniformemente distribuídas dentro do fígado. Consideram-se assim quatro compartimentos: cápsula, espaço porta, lóbulos e espaço central (Martinez-Hernandez & Amenta, 1993a).

a) Cápsula - A cápsula normal é constituída de uma camada fina, semitransparente, contendo tecido conjuntivo formado por fibras colágenas, reticulares e elásticas em pequena quantidade. As fibras formam septos finos que invadem o parênquima hepático subcapsular, anastomosando - se com os septos do espaço porta. Esse fato torna-se proeminente nos estágios precoces da doença crônica do fígado, podendo ser detectado através de biópsia hepática. À microscopia comum, observa-se a presença de camada simples de células mesoteliais ligadas à uma delicada MB, contendo laminina, entactina, colágeno tipo IV e perlecano. Abaixo dessa camada, existe uma matriz formada por tiras cruzadas, contendo colágeno tipo I, como sustentação primária, além de fibras e filamentos de colágeno tipo III, V, VI e fibronectina (Martinez-Hernandez & Amenta, 1993a).

b) Espaço porta - Contém ducto biliar, artéria hepática e ramo de veia porta embebidos na MEC. O tecido conjuntivo do espaço porta do fígado mostra uma estrutura formada por focos de finas fibras de colágeno, ocasionalmente fibras elásticas, uma bem definida MB e uma população de células mesenquimais, como fibroblastos, mononucleares, etc. (Martinez-Hernandez & Amenta, 1993a).

As células epiteliais do ducto biliar são separadas do parênquima que a circunda por delicada MB. A artéria hepática e veia porta, como os vasos de mesmo calibre de outros órgãos, possuem MB que contém laminina, (local de maior deposição de laminina), colágeno tipo IV, e perlecano (Martinez-Hernandez & Amenta, 1993a). Além disso, contém outros componentes da matriz, como colágeno tipo I, III, V, VI, e fibronectina. Tiras de fibras de colágeno do espaço porta seguem-se de fibras similares no interstício lobular adjacente que, por sua vez, dão seguimento a outros no espaço central, formando

dessa maneira um tecido de sustentação do lóbulo do fígado (Rojkind & Pérez-Tamayo, 1983; Martinez-Hernandez & Amenta, 1993a).

c) Lóbulos – São formados por sinusóide, espaço de Disse e hepatócitos. No fígado normal, o tecido conjuntivo intralobular é formado por fibras reticulares, que constituem uma rede firmemente entrelaçada, em torno das células hepáticas (Martinez-Hernandez & Amenta, 1993a).

- Sinusóides - Têm abundantes fenestrações endoteliais, que são aberturas entre as células sinusoidais. Possui uma MB descontínua, fazendo do sinusóide hepático o ideal para facilitar a troca bidirecional de macromoléculas entre plasma e hepatócitos, sendo o fígado o único órgão epitelial que não impõe barreiras entre o plasma e a superfície epitelial (Burt, 1993; Martinez-Hernandez & Amenta, 1993a). Estudo mostrou (Levavasseur *et al.*, 1995) que o perlecano é o proteoglicano mais abundante na MB dos sinusóides, enquanto que laminina, entactina e colágeno tipo IV são vistos por microscopia eletrônica, como pequenos depósitos, ao longo dos sinusóides.

- Espaço de Disse - Os componentes da matriz extracelular identificados no espaço de Disse normal foram: colágeno tipo I, III, IV, V, VI, fibronectina, laminina e proteoglicanos, sendo mais abundantes o colágeno tipo III e a fibronectina (Martinez-Hernandez & Amenta, 1993a).

- Hepatócito – Maher & McGuire (1990), demonstraram que, na injúria e na fibrose hepática, não ocorrem alterações na matriz extracelular dos hepatócitos. No entanto, outros autores identificaram a presença de fibronectina e uma sinalização fraca de hibridização para mRNA de procolágeno I, nos hepatócitos de fígado fibrótico (Clément *et al.*, 1986). Clément *et al.*, (1988) não encontraram laminina em hepatócitos de fígado normal. Na fibrose hepática, estes autores encontraram quantidades variáveis, usando microscopia eletrônica.

d) Espaço central - A veia central consiste de camadas endoteliais de MB contendo laminina, colágeno tipo IV e perlecano. Existem também fibras de colágeno tipo

I, III, IV e abundante fibronectina. Essa matriz do espaço central mistura-se com a matriz do espaço de Disse (Martinez-Hernandez & Amenta, 1993a).

e) Membrana Basal - conta com a presença de componentes colágenos tendo sido demonstrado pela primeira vez, por métodos imunológicos e de difração de raio X, parecendo ter um modelo próprio, com o centro do complexo composto de colágeno tipo IV e a periferia com glicoproteínas (laminina) e proteoglicanos (Laurie *et al.*, 1982; Bissel *et al.*, 1990; Levavasseur *et al.*, 1995).

Os fatores que regulam a produção de MEC podem ser agrupados em solúveis e não solúveis. O fator mais insolúvel é a própria MEC, a qual modula a estrutura e a função dos lipócitos em cultivo. Entre os fatores solúveis, destacam-se as citocinas, que são glicoproteínas essencialmente produzidas por células sanguíneas e também por estroma de células epiteliais, tendo múltiplas funções, tais como modular o metabolismo intermediário do fígado e a reação de defesa do hospedeiro após injúria e infecção, desempenhando também um papel na fibrogênese (Bissel *et al.*, 1990; Burt, 1993). Uma das citocinas mais importantes, responsável pelo início da produção de MEC, é o TGF β (fator de crescimento), liberado de células inflamatórias como neutrófilos, macrófagos e linfócitos (Castilla, Prieto, Fausto, 1991; Clément *et al.*, 1993; Hogemann & Domschke, 1993; Andus & Holstege, 1994; Blazejewski *et al.*, 1995).

A degradação de colágeno provavelmente não é mediada por uma simples enzima hidrolítica e sim por proteinases específicas, muitas das quais têm sido caracterizadas como enzimas purificadas e (ou) clonadas pelo DNA (Rojkind & Pérez-Tamayo, 1983; Bissel *et al.*, 1990; Burt, 1993; Murawaki *et al.*, 1993; Arthur, 1994). As proteinases mais conhecidas são a metaloproteinase, as proteases séricas, a plasmina, os neutrófilos e a proteinase I (Bissel *et al.*, 1990; Arthur, 1994).

O grupo de metaloproteinase é o maior (Bissel *et al.*, 1990) e encontra-se sob uma forma ativa e uma forma latente, acreditando-se que seja produzido em hepatócitos e células sinusoidais. Divide-se em três subgrupos: a collagenase intersticial, a qual degrada o colágeno tipo I, II e III, a collagenase tipo IV, a qual degrada a membrana basal e a estromelisin (Burt, 1993; Arthur, 1994).

Os mais importantes inibidores de metaloproteinase são o TIMPS, TIMP1 e TIMP2, e as proteinases como a $\alpha 2$ macroglobulina (Burt, 1993; Murawaki *et al.*, 1993; Arthur, 1994). Os TIMPS são asialoglicoproteínas, e têm um importante papel na modulação da atividade de metaloproteinases como inibidores. Van Gool *et al.* (1991) demonstraram a presença de $\alpha 2$ macroglobulina no granuloma esquistossomótico, sugerindo que poderia acelerar a deposição de colágeno, provavelmente em virtude da inibição de collagenase. À microscopia imunoeletrônica observaram-se que TIMP (Arthur, 1994) e $\alpha 2$ macroglobulina (Andus *et al.*, 1987) são produzidos por células de Ito.

A correta regulação da produção e a montagem de macromoléculas extracelulares são essenciais para a função tecidual. As anormalidades na deposição ou na estrutura dos constituintes de MEC levam a conhecido número de estados patológicos, entre eles, a fibrose hepática (Bissel *et al.*, 1990; Arthur, 1994). Em situações fisiopatológicas, tais como gravidez, regeneração hepática após hepatectomia, ou crescimento do rim após nefrectomia unilateral, a proporção entre células e MEC está alterada, porém, após o término do processo, a proporção volta a normalizar. Em condições patológicas, ocorrem alterações irreversíveis nessas proporções (Martinez-Hernandez & Amenta, 1993b).

Os componentes da MEC, ou seus metabólitos, aparecem no sangue quando são super ativados ou degradados, tanto na injúria aguda como na injúria crônica do fígado. Os fatores que influenciam o nível sangüíneo de componentes da MEC são o volume do fígado, a atividade de fibrogênese, a quantidade de tecido fibroso acumulado e o grau de capilarização de sinusóide. Deste modo, alguns componentes da MEC são liberados para o sangue no estágio agudo da doença, outros em estágios crônicos, outras em ambos (Tanikawa, 1994). Com base em observações *in vitro*, sugeriu-se que o caminho para ativação de células perissinusoidais envolve ativação de células de Kupffer que, por sua vez secretam citocinas, as quais mediam a resposta das células perissinusoidais. Observou-se que na injúria aguda a expansão da população de monócitos (macrófago ED1-positivo) precede a população de células perissinusoidais e ambos os tipos de células acumulam em áreas de necrose (Burt, 1993; Hogemann & Domschke, 1993).

O acúmulo excessivo de tecido conjuntivo resulta, portanto, de um desequilíbrio entre deposição e remoção de colágeno e de outras macromoléculas, tais como glicosaminoglicano e glicoproteínas. A deposição excessiva pode ser decorrente de três processos: a) aumento da síntese; b) diminuição da degradação; c) combinação dos dois processos, simultaneamente ou sucessivamente (Rojkind & Pérez-Tamayo, 1983; Clément *et al.*, 1993; Burt, 1993).

1.4. DIAGNÓSTICO DA FIBROSE HEPÁTICA E DETECÇÃO DE COMPONENTES DA MEC

O estágio e a atividade do processo fibrótico podem ser avaliados e determinados por várias técnicas. O diagnóstico da fibrose hepática é essencialmente realizado por técnicas morfológicas. Através da biópsia podem ser examinados a arquitetura lobular, grau de dano do hepatócito, infiltrado inflamatório, deposição de fibrose, regeneração e formação de nódulos. Pode também ser mostrada uma estimativa semi quantitativa da fibrose, por coloração, para observação de colágeno (Rojkind & Pérez-Tamayo, 1983; Wu, 1995). Entretanto, existem limitações para esse método - erro na leitura da lâmina, na qual é comum encontrar parênquima normal entre áreas de fibrose portal, o material colhido pode ser insuficiente; é um método invasivo, que não pode ser realizado em pacientes com alterações de coagulação e deve ser realizado em ambiente hospitalar, além de refletir uma visão estática e não dinâmica do processo fibrótico (Rojkind & Pérez-Tamayo, 1983; El-Mohandes *et al.*, 1987; Abdel-Wahad *et al.*, 1989).

Alguns métodos de imagem têm sido usados para o estudo de fibrose hepática. Dentre eles o ultra-som tem se tornado importante referência no diagnóstico da fibrose hepática na EM, tendo a vantagem de ser um método não invasivo, que pode ser realizado em grande número de pessoas, a um baixo custo. A confirmação da fibrose ocorre pela presença de critérios como o espessamento periportal, a fibrose da parede da vesícula biliar, a hipertrofia do lobo esquerdo, a esplenomegalia e o aumento do diâmetro da veia porta.

Por fim, pode ser feita uma classificação do grau da fibrose (Abdel-Latif, Abdel-Wahad, El-Kady, 1981; Fataar *et al.*, 1984; Cerri, Alves, Magalhães, 1984; Abdel-Wahad *et al.*, 1989; Abdel-Wahad *et al.*, 1990; Domingues *et al.*, 1993).

A determinação de componentes da MEC pode ser feita por várias técnicas:

Técnicas imunohistoquímicas - A preparação e purificação de vários componentes da MEC e produção de anticorpos específicos tornaram possíveis a detecção dos componentes da MEC no fígado normal, como também o aumento e alterações na composição desses componentes, nos processos fibróticos (Grimaud & Borojevic, 1977; Clément *et al.*, 1988; Wu & Danielsson, 1994).

Síntese dinâmica do colágeno - a determinação da hidroxiprolina hepática, que é uma enzima ativadora de células de Ito, oferece um indicador do estímulo da síntese do colágeno total no fígado, baseado na constituição específica do aminoácido na molécula do colágeno e é largamente usado para calibração de marcadores sérico da fibrose e avaliação de agentes antifibróticos (Rwaurt *et al.*, 1989; Sakaida *et al.*, 1996). A técnica para determinação de hidroxiprolina é estável e pode detectar níveis em nanogramas no tecido, entretanto, requer uma certa quantidade de tecido hepático, que nem sempre é possível de ser adquirida por biópsia hepática. Outra limitação do método é que são obtidas informações sobre o colágeno total, e não mostra quais tipos aumentam (Gabrielli & Corrocher, 1991; Okuno *et al.*, 1991; Wu, 1995).

Hibridização molecular – As técnicas mais frequentemente utilizadas são a transcrição quantitativa (mRNA), de genes, (Wu, 1995) e a hibridização *in situ* (ISH) (Milani *et al.*, 1995), para detecção de transcrições de vários genes de componentes de MEC.

Marcadores de fibrogênese hepática em fluidos humanos - os marcadores podem ser medidos em fluidos séricos, urina, e em material de biópsia hepática. Podem ser medidos produtos da síntese do colágeno, produtos da degradação, enzimas que participam na síntese e na degradação de colágeno, glicoproteínas e suas subunidades e proteoglicanos. Os métodos são classificados em RIA (radioimunoensaio); EIA (exame imunoenzimático);

análises bioquímicas (enzimático) e imunoeletroforese, com variações na especificidade, custos e aplicabilidade clínica (Wu, 1995).

Um exame sérico ideal deveria medir o processo dinâmico da fibrogênese, fibrólise e refletir o grau de fibrose existente. Além disso, deveria ser órgão - específico e ser fácil de executar, com baixo custo. Entretanto, problemas vêm sendo detectados nos estudos com esses exames, como também com os antígenos usados, que mostram heterogeneidade na molécula e não são órgãos - específicos. Outra dificuldade é que componentes da MEC aumentam durante a fase de crescimento e após muitas cirurgias. Recentemente vários estudos têm sido feitos para tentar relacionar marcadores de fibrose com lesões histológicas do fígado, principalmente na cirrose hepática alcoólica ou viral, havendo ainda poucos estudos com a EM (Schuppan *et al.*, 1995).

1.5. MARCADORES SÉRICOS DE FIBROSE HEPÁTICA

- Procolágeno III (PIIINP)– existem exames usando método RIA. Os anticorpos para PIIINP são extraídos de pele bovina e têm reação cruzada contra PIIINP em humanos e ratos, sendo um exame largamente usado em estudos experimentais e investigações clínicas e para avaliar eficácia terapêutica de anifibróticos (Galambos, Collins, Galambos, 1985; Zwingenberger *et al.*, 1988a; Schuppan, 1991; Jiang *et al.*, 1992; Floreani *et al.*, 1994; Schuppan *et al.*, 1995). Os níveis séricos estão mais elevados em doença hepática ativa (hepatite crônica ativa e cirrose ativa), que em doença inativa como hepatite persistente ou cirrose inativa. Na hepatite crônica ativa, o aumento de PIIINP não mostrou diferenças significantes em pacientes com ou sem cirrose, ao passo que os níveis foram próximos do normal em pacientes com cirrose e pouca atividade histológica. Concluíram os autores que, pela correlação existente entre atividade histológica e fibrogênese, pode-se referir ao PIIINP como marcador de fibrogênese, ou seja, de atividade de doença (Galambos *et al.*, 1985; Gabrielli *et al.*, 1989; Trinchet *et al.*, 1991, Trinchet, 1995). Também encontra-se elevado em pacientes portadores da forma hepatoesplênica da EM (El-Mohandes *et al.*, 1987; Zwingenberger *et al.*, 1988a; Zwingenberger *et al.*, 1988b; Mincis *et al.*, 1990).

- Propeptídeo do colágeno tipo I (PICP) - Teoricamente esse peptídeo deveria refletir mais fielmente a fibrose, pois é completamente removido das fibras quando é secretado para o espaço extracelular, enquanto que com o PIIINP essa remoção é incompleta. Entretanto estudos têm demonstrado que o PICP é menos específico que PIIINP, não se conhecendo as razões para isso. Os níveis séricos encontram-se mais elevados em pacientes com cirrose, tendo sido relacionado com "score" de fibrose (Schuppan, 1991; Trinchet *et al.*, 1991; Wu, 1995).

- Colágeno tipo IV- Exames de RIA e EIA encontram-se disponíveis, com produção de anticorpos monoclonais específicos (Sakai *et al.*, 1982; Yokoya *et al.*, 1992). Os níveis séricos desse colágeno são elevados em todas as injúrias alcoólicas do fígado (Niemela *et al.*, 1990). Na infecção por vírus da hepatite, níveis de colágeno tipo IV são valorizados na diferenciação entre hepatite crônica persistente e ativa, pois pacientes com hepatite crônica persistente têm colágeno tipo IV normal (Tanikawa, 1994). Os peptídeos do procolágeno tipo IV, conhecidos como domínio 7S-colágeno IV (PIVNP) e o domínio dimérico do terminal carbóxi (PIVCP) também podem ser determinados. Como não são removidos por peptidases durante formação da estrutura para membrana basal, servem como ligação entre outros componentes e como resultam da degradação de colágeno tipo IV podem indicar fibrólise. Entretanto, uma vez aumentada, a fibrólise é acompanhada de uma maior síntese de colágeno. Muitos estudos clínicos têm demonstrado que pacientes com hepatite crônica ativa, cirrose ativa, doença alcoólica crônica apresentam elevação significativa de PIVNP e PIVCP (Wu, 1995). Pacientes com cirrose apresentam níveis mais altos que em pacientes com hepatite crônica ativa e também têm sido mostrados para avaliar progressão e severidade de doença alcoólica crônica (Hayasaka *et al.*, 1990; Schuppan, 1991). Em trabalho realizado comparando a concentração sérica de 7S colágeno (PIVNP) e PIIIP, observou-se que concentrações de 7S colágeno aumentam com a severidade da doença, ao passo que concentrações de PIIIP e propil hidroxilase elevaram-se todo o tempo. Também foi encontrada correlação significante entre o grau de fibrose e 7S colágeno (Yamada *et al.*, 1992). Em outro estudo, Murawaki *et al.* (1996) concluíram que, tanto 7S colágeno, como colágeno tipo IV, têm a mesma utilidade para avaliar fibrose hepática, comparando exames para 7S por RIA e para colágeno tipo IV por EIA.

- Colágeno VI - Pode ser medido por RIA e EIA. Existem poucos estudos avaliando o significado clínico de CVI em pacientes com doença crônica do fígado. Um estudo preliminar mostra que não existe correlação entre os níveis de CVI e outros marcadores. Não encontra-se elevada no estágio inicial da esquistossomose, mas está marcadamente aumentado no estágio final da doença (Schuppan *et al.*, 1995).

- Laminina - Aparentemente, a deposição de laminina no espaço de Disse é o principal contribuinte para a capilarização, expandindo-se até o trato portal, contribuindo para aumentar a pressão portal e diminuir a função hepática. O kit de EIA para aplicação clínica possui anticorpo contra determinados antígenos de fragmentos de laminina de placenta humana. Um alto nível sérico tem sido relacionado, em alguns estudos com fibrose hepática, sendo encontrados aumentos de laminina em pacientes com fibrose hepática e cirrose, correlacionando-se provavelmente com a extensão da fibrose do fígado (Fujimoto *et al.*, 1990; Yokoya *et al.*, 1992; Tanikawa, 1994). Em outros estudos foi assinalada uma correlação entre níveis séricos de laminina e hipertensão portal (Gressner, Tittor, Kropf, 1988; Parise & Rosa, 1992; Kondo *et al.*, 1995). Para avaliar a relação entre os níveis séricos de laminina e hipertensão portal, Parise & Rosa (1992), mediram a pressão da veia esplênica, tendo encontrado uma possível correlação entre o nível de laminina e a pressão esplênica. O autor sugere que essa correlação pode ser explicada em virtude de um aumento da deposição de MB, secundária à hipertensão portal pré - sinusoidal, encontrada na esquistossomose. Por essa razão, a presença de hipertensão portal deve ser considerada quando da interpretação de valores de laminina em pacientes com fibrose hepática e cirrose.

Pode também ser medido o maior fragmento da laminina (p1), que se encontra elevado em doenças crônicas do fígado e correlaciona-se com gradiente de pressão portal (Schuppan *et al.*, 1995). Numa revisão realizada por Trinchet (1995), observou-se que a laminina e colágeno tipo IV seriam marcadores de MB, elevando-se em pacientes com cirrose e que se correlacionavam com "score" de fibrose.

- Undulina - Estudos preliminares mostram que pacientes com doença hepática crônica têm níveis aumentados de undulina, mas não foi encontrada correlação com outros marcadores (Wu & Danielsson, 1994; Schuppan *et al.*, 1995). Na EM foram

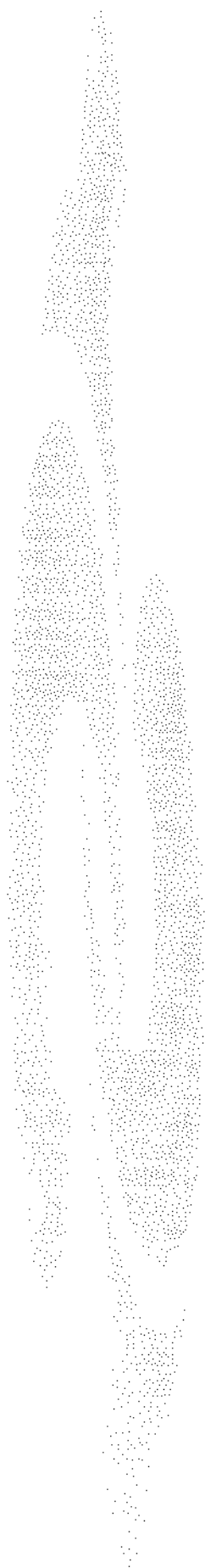
encontrados níveis elevados de undulina em todas as formas clínicas, tanto na fase inicial, como na forma avançada de comprometimento hepático (Shahin *et al.*, 1995).

- Ácido hialurônico - É um glicosaminoglicanos e pode ser determinado por RIA. Níveis aumentados podem ser considerados como fator preditivo de cirrose e de progressão da doença na cirrose biliar primária. Também propôs – se que níveis de ácido hialurônico refletem fibrogênese ativa e correlacionam-se com função hepática. Na cirrose alcoólica, níveis de ácido hialurônico estão aumentados em pacientes Child C, podendo sugerir uma correlação com grau de fibrose (Parés *et al.*, 1996). A concentração sérica de ácido hialurônico depende da excreção hepática e renal. Na cirrose, ambas as excreções estão reduzidas e a vida média do ácido hialurônico está aumentado na falência hepática (Schuppan *et al.*, 1995). Como a laminina, parece ter também uma correlação com pressão de veia porta e pode ser um fator preditivo de hipertensão portal na cirrose (Gressner *et al.*, 1988).

- Fibronectina – disponível por RIA, sendo considerada proteína chave para estadiamento precoce de fibrose hepática (Ballardini *et al.*, 1985; Miao *et al.*, 1993).

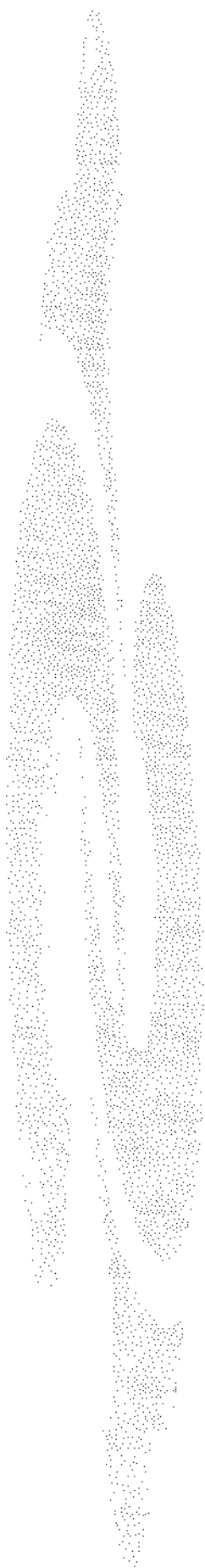
A avaliação da sensibilidade, especificidade, valores preditivos negativos e positivos, devem ser estabelecidos, antes de marcadores séricos serem usados na clínica diária. Até o momento, os estudos mostram que o valor diagnóstico desses marcadores têm sido baixo, refletindo a grande variação nos níveis séricos de diferentes grupos histológicos.

Em nosso estudo, através de método imunoenzimático sanduíche, usando anticorpos monoclonais, objetivamos determinar os níveis séricos de colágeno tipo IV e laminina em pacientes portadores de EM, como modelo clínico de fibrose periportal.



2. OBJETIVOS

1. Determinar os níveis séricos de colágeno tipo IV nas diversas formas clínicas de esquistossomose mansoni.
2. Determinar os níveis séricos de laminina nas diversas formas clínicas de esquistossomose mansoni.
3. Comparar os níveis séricos de colágeno tipo IV e laminina nas diversas formas clínicas de esquistossomose mansoni.
4. Correlacionar os níveis séricos de colágeno tipo IV e laminina com achados de ultra-sonografia, realizada conforme protocolo da Organização Mundial de Saúde em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.
5. Correlacionar níveis séricos de colágeno tipo IV com os níveis séricos de laminina, em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.



3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

Foram avaliados indivíduos atendidos no Ambulatório de Doenças do Fígado no Hospital da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (FCM – UNICAMP), no Centro de Saúde de Barão Geraldo e no Centro de Saúde Santa Mônica, em Campinas – SP, entre abril de 1996 e julho de 1997.

Todos os pacientes foram submetidos a coleta de dados epidemiológicos e seguiram um protocolo que incluía a realização de determinações séricas de aminotransferase da alanina (ALT), aminotransferase do aspartato (AST), bilirrubinas totais e frações, gamaglutamil transpeptidase (GGT), eletroforese de proteínas, glicose, fosfatase alcalina, RNI, contagem de plaquetas, hemograma, sorologia para HIV, HbsAg, antiHbs e antiHCV; parasitológico de fezes; endoscopia digestiva alta, ultra-sonografia de abdome, determinação de colágeno tipo IV e de laminina.

Os indivíduos controles foram submetidos à coleta de dados epidemiológicos e exames que incluíram a realização de parasitológico de fezes; sorologia para vírus B e C, ultra-sonografia de fígado, determinação de colágeno tipo IV e laminina.

3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Idade entre 12 e 70 anos;
- Ambos os sexos;
- Pacientes com epidemiologia positiva para EM;
- Pacientes com um ou mais exames positivos para EM: parasitológico de fezes, biópsia retal, ultra-sonografia de fígado, biópsia hepática;
- Relato confiável de tratamento anterior da infestação e (ou) de suas complicações (clínico ou cirúrgico).

3.2. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Hepatite crônica viral;
- Outras doenças infecciosas que afetam o fígado;
- Etilismo crônico;
- Gravidez;
- Antecedentes de uso abusivo de drogas;
- Anti HIV positivo;
- Abandono do protocolo.

Para inclusão no estudo, foram selecionados 64 pacientes, com média de idade de $39,11 \pm 14,79$ anos, mínima de 14 e máxima de 70 anos, sendo 33 do sexo feminino e 31 do sexo masculino, portadores das formas clínicas intestinal, hepatointestinal e hepatoesplênica da EM, e 18 indivíduos normais, como controles. com média de idade de $37,61 \pm 10,42$ anos, sendo 7 do sexo masculino e 11 do sexo feminino. Esses indivíduos normais foram pareados por sexo e idade, não tinham história anterior de infestação por *Schistosoma mansoni* e de alcoolismo, e não apresentavam sinais clínicos e laboratoriais de EM.

3.3. CRITÉRIOS PARA DIAGNÓSTICO DE ESQUISTOSSOMOSE MANSONI

Os pacientes foram classificados de acordo com a forma clínica da doença, apresentada na ocasião da realização do questionário clínico, sendo usado os critérios adotados por Coutinho (1968) e Coutinho & Domingues (1993):

a) Forma intestinal - pacientes com protoparasitológico positivo para *Schistosoma mansoni* e ausência de hepatoesplenomegalia ao exame físico;

b) Forma hepatointestinal - pacientes com protoparasitológico positivo para *Schistosoma mansoni* e presença de hepatomegalia ao exame físico;

c) Forma hepatoesplênica - pacientes com epidemiologia positiva para EM e hepatoesplenomegalia ao exame clínico.

- Forma hepatoesplênica compensada – pacientes que não apresentaram até o momento da avaliação nenhum episódio de descompensação.

- Forma hepatoesplênica descompensada – pacientes que tinham apresentado pelo menos um episódio de descompensação por icterícia, ascite ou hemorragia digestiva.

3.4. DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES POR FORMA CLÍNICA

a) Forma intestinal (FI) - 18 pacientes, 10 do sexo masculino e 8 do sexo feminino, com idade média de $27,71 \pm 6,56$ anos.

b) Forma hepatointestinal (HI) - 17 pacientes, 6 do sexo masculino e 11 do sexo feminino, com idade média de $41,82 \pm 16,13$ anos.

c) Forma hepatoesplênica compensada (HEC) - 12 pacientes, 4 do sexo masculino e 8 do sexo feminino, com idade média de $45,92 \pm 15,96$ anos.

d) Forma hepatoesplênica descompensada (HED) - 17 pacientes, 13 do sexo masculino e 4 do sexo feminino, com idade média de $43,71 \pm 13,05$ anos. Desses pacientes, 5 haviam sido submetidos à esplenectomia.

Esse trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética do Hospital Universitário da Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP.

3.5. EXAMES LABORATORIAIS

As determinações de GGT, da fosfatase alcalina, da ALT, da AST, da bilirrubina direta, da uréia, da creatinina e da albumina, foram realizadas, simultaneamente, em todos os pacientes no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Universitário da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP e foram avaliadas pelo método colorimétrico direto automatizado, utilizando kit comercial.

A contagem de leucócitos, plaquetas e hemoglobina foi realizada simultaneamente em todos os pacientes, no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Universitário da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP e foram realizados por método automatizado, utilizando kit comercial.

O RNI foi realizado, simultaneamente, em todos os pacientes no Hemocentro do Hospital Universitário da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, e foi determinado pelo método Quick modificado, utilizando kit comercial.

A sorologia para HIV (ELISA) foi realizada, simultaneamente, em todos os pacientes e controles no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Universitário da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, utilizando kit comercial.

Os marcadores sorológicos para os vírus B (HbsAg e antiHBc) e C (anti HCV) da hepatite foram realizados em todos os pacientes e controles, simultaneamente, no Laboratório de Hepatologia do Gastrocentro, por meio de método imunoenzimático, utilizando kits comerciais.

Os resultados estão expressos em média com desvio padrão.

3.6. ENDOSCOPIA DIGESTIVA ALTA

Foram realizadas endoscopias digestiva alta em 8 pacientes portadores da forma clínica hepatointestinal, 11 da forma clínica hepatoesplênica compensada e 17 da forma clínica hepatoesplênica descompensada, quando indicado, usando classificação de acordo

com o calibre de varizes, em aparelho de vídeo endoscopia Olympus no Serviço de Endoscopia Digestiva do Gastrocentro:

F0 - ausência de varizes;

F1 - varizes de pequeno calibre;

F2 - varizes de médio calibre;

F3 - varizes de grosso calibre.

3.7. ULTRA-SONOGRAFIA DE ABDOME SUPERIOR

A ultra-sonografia de abdome superior foi realizada em todos os pacientes e controles, no serviço de Ultra-sonografia do Gastrocentro, seguindo protocolo adotado pela World Health Organization (1991), utilizando aparelho Toshiba Medical Systems Diagnostic Ultrasounds, Modelo SSA - 250 A (20730-116EC), com transdutor linear/convexo de 3,75 Mhz. Com base nos achados de ultra-sonografia, foi realizado estadiamento da doença (Tabela1).

A - Posição para exame do fígado: (Anexo 1)

longitudinal

transverso

subcostal transhepática

oblíqua

vertical direita

vertical esquerda

B - Superfície do fígado - Visto por via subcostal, na margem posterior.

superfície lisa

superfície levemente irregular

superfície grosseiramente irregular

C - Tamanho do lobo esquerdo - O comprimento do alto do lobo esquerdo até a margem caudal foi medido na posição longitudinal, com o transdutor posicionado acima da aorta.

menor ou igual a 70 mm - tamanho normal

maior que 70 mm - tamanho aumentado

D - Tamanho do lobo direito - Medido na linha axilar média direita.

maior que 140 mm - tamanho normal

igual ou menor que 140 mm - tamanho diminuído

E - Ecogenicidade periportal - O espessamento em ramos portais deve ser medido da camada externa do vaso para a região externa do espessamento. Considera-se como medida final, a média de três ramos periféricos da veia porta, entre o primeiro e terceiro nível da porta. Os resultados da medida do espessamento periportal foram expressos em média e desvio padrão. Medida final:

grau 0 até 3 mm - ecogenicidade preservada (fig. 1)

grau I entre 3-5 mm - ecogenicidade aumentada + (fig. 2)

grau II entre 5-7 mm - ecogenicidade aumentada ++ (fig. 3)

grau III acima de 7 mm - ecogenicidade aumentada +++ (fig.4)



FIGURA 1: Espessamento periportal grau 0, detectado através de ultra-sonografia em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.

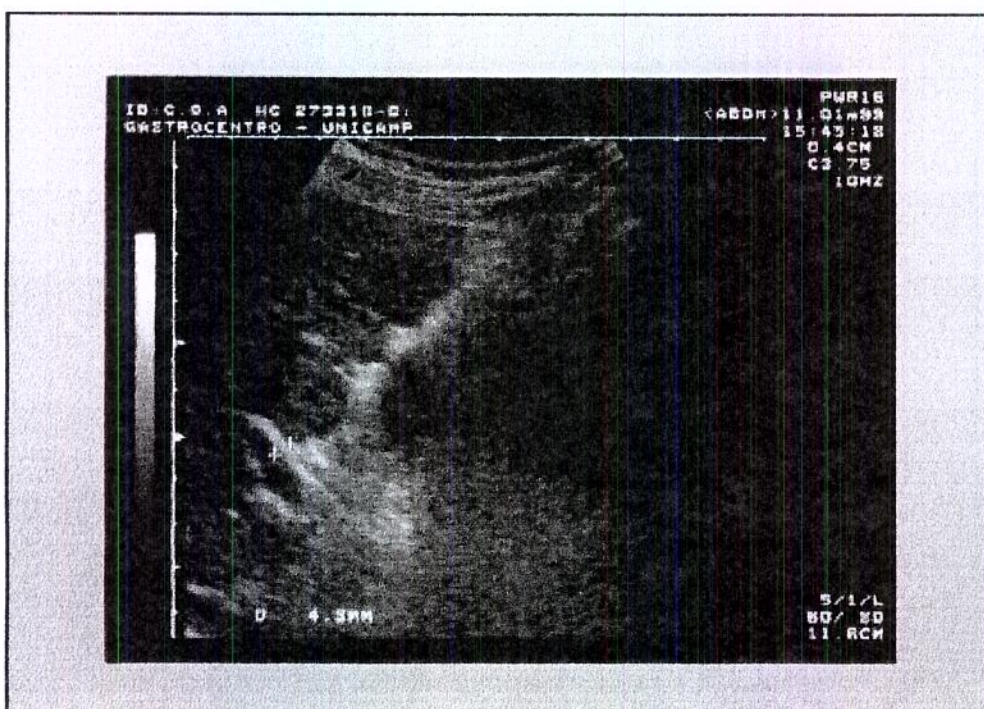


FIGURA 2: Espessamento periportal grau I, detectado através de ultra-sonografia em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.

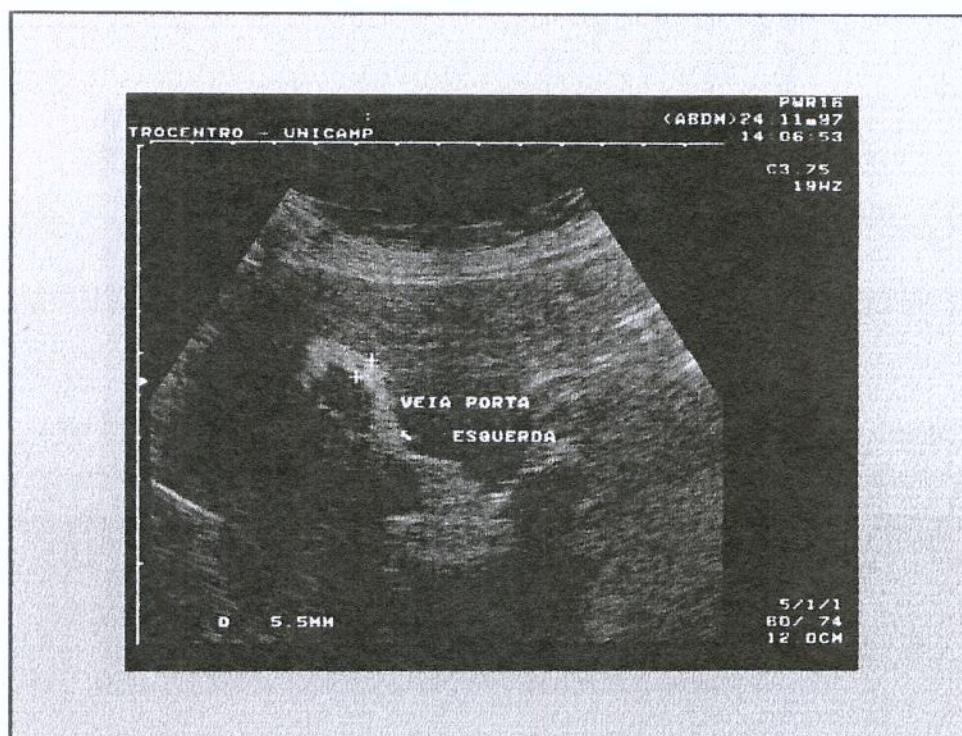


FIGURA 3: Espessamento periportal grau II, detectado através de ultra-sonografia em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.

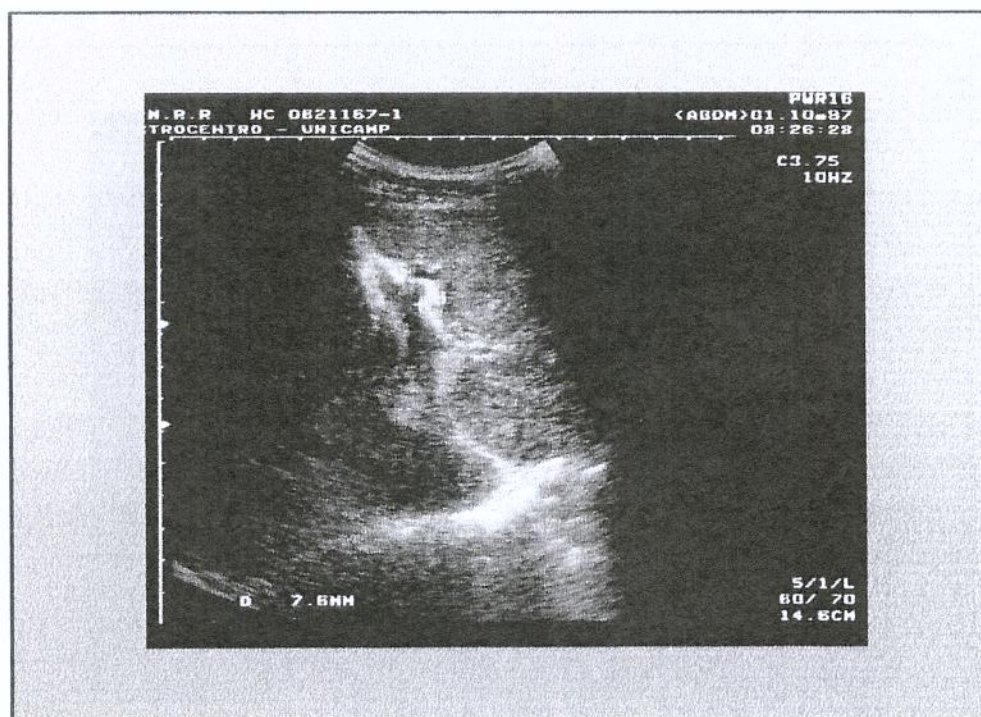


FIGURA 4: Espessamento periportal grau III, detectado através de ultra-sonografia em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.

F - Diâmetro de veia porta - O diâmetro entre camada íntima - íntima da veia porta deve ser medido entre a porta hepática e sua bifurcação.

menor ou igual a 12 mm - diâmetro normal

acima de 12 mm - diâmetro aumentado

G - Presença de colaterais – Observa-se a presença das veias coronárias, periumbilical e (ou) gástricas curtas, visíveis ao ultra-som .Considera-se:

colaterais ausentes

presença duvidosa

colaterais presentes

H - Tamanho do baço - O comprimento do baço é tomado no sentido longitudinal, polo a polo. O valor normal não deve exceder 120 mm na linha axilar média esquerda.

I - Presença de ascite - Observação de liquido livre na cavidade abdominal. Considera - se:

ausente- quando não existe liquido livre

presença duvidosa

presente - quando existe liquido livre

J - Parede da vesícula biliar - A vesícula biliar pode ser demonstrada na posição longitudinal. Considera-se o espessamento da parede posterior como:

normal - se a espessura for menor que 5 mm

anormal - se a espessura da parede for igual ou maior que 5 mm

K - Parênquima hepático - Lesões ecogênicas podem ser vistas no parênquima hepático, não relacionadas com veia portal ou ramos. Considera-se:

ausente - quando não são observadas alterações do parênquima

presente - quando são observadas lesões ecogênicas no parênquima

Tabela 1: Estadiamento da esquistossomose mansoni baseado em achados de ultrasonografia

PARÂMETROS	ESTADIAMENTO			
	0	I	II	III
Espessamento periportal	-	+/++	+/++/+++	++/+++
Aumento do tamanho do baço	-	-	+	+
Aumento do tamanho do lobo esquerdo do fígado	-	+/-	+/-	
Diminuição do tamanho do lobo direito do fígado	-	+/-	+	+
Aumento do diâmetro da veia porta	-	-	+	+
Presença de colaterais	-	-	+/-	+
Presença de ascite	-	-	-	+
Espessamento da parede da vesícula biliar	-	-	-	+

(-) não existem alterações patológicas; (+/-) pode ou não existirem alterações patológicas; (++++/++) existem alterações patológicas

Estadiamento 0 doença inexistente; I pode ou não existir doença; II doença presente; III doença em fase avançada

3.8. DETERMINAÇÃO DE COLÁGENO TIPO IV

A concentração sérica de colágeno tipo IV foi determinada em todos os pacientes e controles, no Laboratório de Hepatologia do Gastrocentro. O método utilizado foi imunoenzimático (EIA) usando dois anticorpos monoclonais. O antígeno reage simultaneamente com o anticorpo ligado à pérola e o anticorpo enzimático, contra diferentes *situs* antigênicos da mesma molécula de colágeno tipo IV, resultando numa molécula que fica em um “sanduíche” de anticorpos. Após remoção do anticorpo da pérola, a solução é incubada com um substrato enzimático resultando no desenvolvimento de cor. A atividade de peroxidase é proporcional à quantidade de antígeno e a concentração de colágeno tipo IV pode ser determinada a partir da curva padrão.

a) Preparo do plasma - Após jejum de 6 horas, as amostras de sangue foram coletadas a vácuo, centrifugadas e o soro armazenado a -20°C.

b) Preparo de reagentes:

1- A solução padrão de 2000ng/ml, foi diluída de forma seriada, até atingir concentrações de 1000, 500, 250, 125, 62, 31, 16 e 0ng/ml;

2- Solução colorimétrica – a partir da diluição de 500µl de solução solvente ao substrato cromógeno;

3 - Solução para lavagem – a partir da diluição do concentrado com 1,8 litros de água deionizada.

c) Execução do exame:

1ª reação: imunorreação

É adicionado em cada tubo:

1 - 50µl de solução do padrão diluído para realização da curva;

2 - 50µl da amostra;

3 - 300µl da solução de anticorpo enzimático;

4 - pérolas sensibilizadas com o anticorpo;

5 - A seguir incubar os tubos à temperatura ambiente por 60 minutos e lavar por 3 vezes com solução apropriada;

2ª reação: enzimática

6 - 300µl da solução colorimétrica;

7 - Incubar a 10-30°C por 30 minutos, com os tubos parados, sem agitar;

8 - Interrompido a reação enzimática com solução 1N H₂SO₄;

d) Espectofotometria: feito leitura da absorbância em 450nm de comprimento de onda, para solução padrão e amostras, utilizando água deionizada como branco.

e) Cálculo: 1 - Feita curva padrão utilizando valores de absorbância encontrados nas respectivas diluições da solução padrão (Tabela 2 e Figura 5)

Tabela 2: Valores da curva padrão de colágeno tipo IV

CURVA PADRÃO DE COLÁGENO TIPO IV	
CONCENTRAÇÃO	DENSIDADE
0ng/ml	0.064
16ng/ml	0.060
31ng/ml	0.086
62ng/ml	0.125
125ng/ml	0.185
250ng/ml	0.323
500ng/ml	0.594
1000ng/ml	1.007

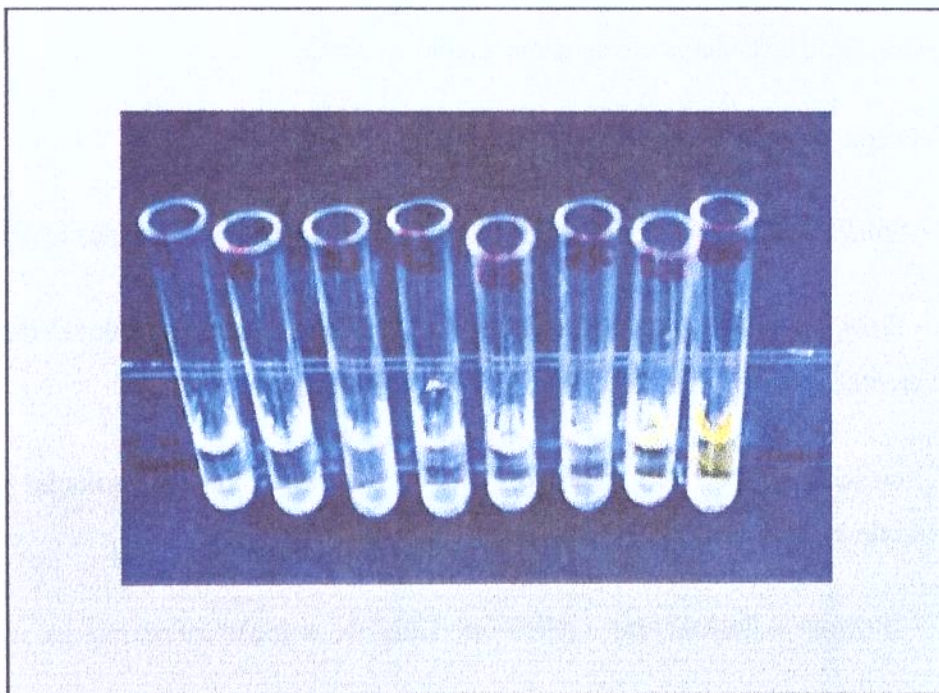


Figura 5: Curva padrão de colágeno tipo IV.

2 - O cálculo da concentração de colágeno tipo IV nas amostras se consegue plotando o valor de absorbância encontrado para cada amostra na curva padrão e observando-se o valor de concentração correspondente.

3.9. DETERMINAÇÃO DE LAMININA

A concentração sérica de laminina foi determinada em todos os pacientes e controles, no Laboratório de Hepatologia do Gastrocentro. O método utilizado foi imunoenzimático (EIA) usando dois anticorpos monoclonais. O antígeno reage simultaneamente com o anticorpo ligado à pérola e o anticorpo enzimático contra diferentes *situs* antigênicos da mesma molécula de laminina, resultando numa molécula que fica em um “sanduíche” de anticorpos. Após remoção do anticorpo da pérola, a solução é incubada com um substrato enzimático resultando no desenvolvimento de cor. A atividade de peroxidase é proporcional à quantidade de antígeno e a concentração de laminina pode ser determinada a partir da curva padrão.

a) Preparo do plasma - Após jejum de 6 horas, as amostras de sangue foram coletadas a vácuo, centrifugadas e o soro armazenado a -20°C.

b) Preparação de reagentes:

1 - Solução padrão - adicionado 500µl da solução tampão ao padrão hLM;

2 - Solução padrão para curva padrão – Diluído a solução padrão(1) de forma seriada até concentrações de 1920, 960, 480, 240, 120, 60e 0ng/ml;

3 - Solução anticorpo enzimático - diluído o concentrado com solução tampão numa proporção de 1:35;

4 - Solução colorimétrica - adicionar 12ml de solução substrato no reagente cromógeno;

5 - Solução para lavagem - diluir 100ml da solução concentrada com 900ml de água deionizada;

c) Execução do exame:

1ª reação: imunorreação

1 - 20µl da solução para curva padrão;

2 - 20µl das amostras;

3 - 300µl da solução de anticorpo enzimático em cada tubo;

4 - pérolas sensibilizadas com anticorpo específico;

5 – A seguir incubar a 37°C por 60 minutos e lavar por 3 vezes com solução apropriada;

2ª reação: enzimática

É adicionado a cada tubo:

6 - 300µl da solução colorimétrica;

7 - Incubado a 37°C por 30 minutos;

8 - Interrompido a reação enzimática com solução 1N H₂SO₄;

d) Espectofotometria: Feito leitura da absorbância em 492nm de comprimento de onda, para solução padrão e amostras, utilizando água deionizada como branco.

e) Cálculo:

1 - Feita curva padrão utilizando valores de absorbância encontrados nas respectivas diluições da solução padrão (Tabela 3 e Figura 6).

Tabela 3: Valores da curva padrão de laminina

CURVA PADRÃO DE LAMININA	
CONCENTRAÇÃO	DENSIDADE
0ng/ml	0.033
60ng/ml	0.058
120ng/ml	0.099
240ng/ml	0.192
480ng/ml	0.434
960ng/ml	0.782
1920ng/ml	1.484

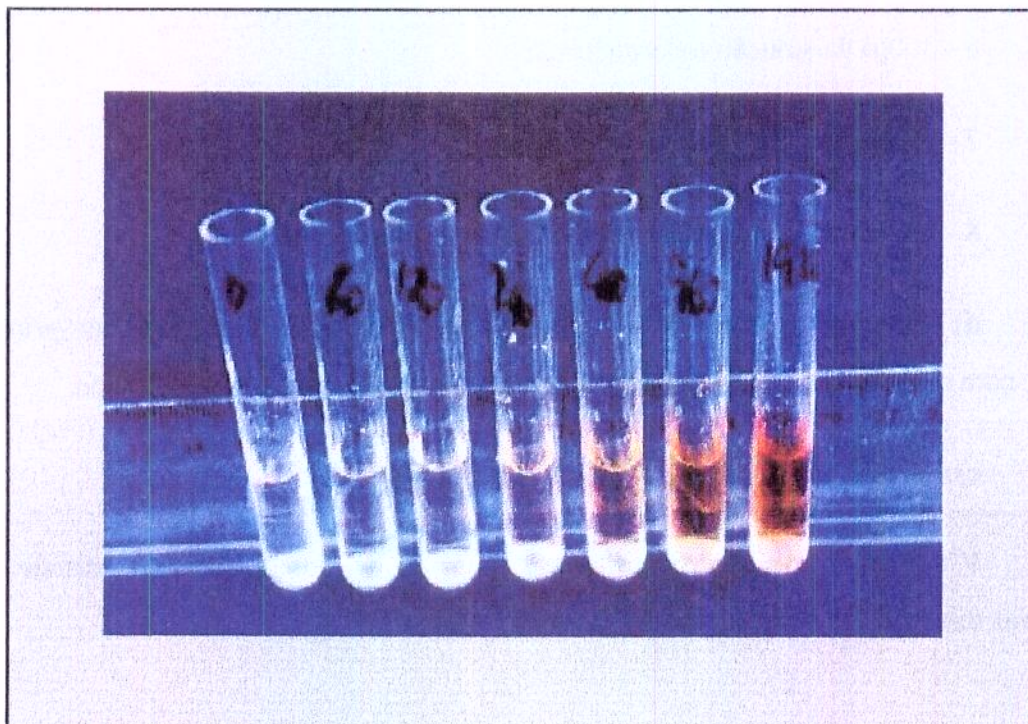


Figura 6: Curva padrão de laminina

2 - O cálculo da concentração de laminina nas amostras se consegue plotando o valor de absorbância encontrado para cada amostra na curva padrão e observando-se o valor de concentração correspondente .

3.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA

3.10.1. Comparação múltipla:

Para o estudo de comparações múltiplas entre os grupos foi utilizado método não paramétrico de Kruskal-Wallis (Conover, 1971).

Para comparar média entre grupo controle e grupo total da doença e entre média de pacientes com e sem esplenectomia foi utilizado o teste de Wilcoxon (Conover, 1971).

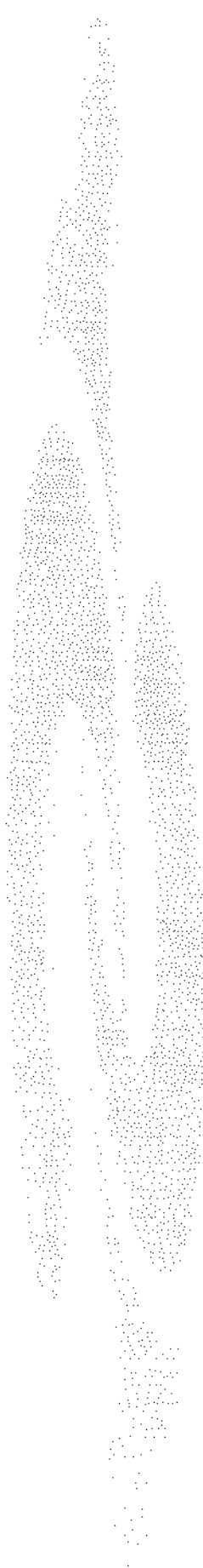
3.10.2. Coeficiente de correlação linear:

Para avaliar correlações entre determinação do colágeno tipo IV e da laminina e espessamento periportal ao ultra-som, foi utilizado o coeficiente linear de Pearson (Conover, 1971; Flecher, Flecher, Wagner, 1989).

3.10.3. Ponto de corte:

Para estabelecer o ponto de corte, foi usado método “Receiver Operating Curve” (ROC), calculando-se a sensibilidade e especificidade para cada valor do teste. A partir desses valores foi construída uma curva, plotando a sensibilidade contra a especificidade (1- especificidade) de cada valor. O valor do ponto de corte é o ponto onde a declividade da curva é igual à 1. (Milman & Albeck, 1995).

Neste trabalho foi considerado estatisticamente significativo o valor de $p < 0,05$.



4. RESULTADOS



4.1. EXAMES LABORATORIAIS

Todos os pacientes e controles apresentaram marcadores para vírus B e C negativos, como também testes ELISA para HIV negativos.

Os exames laboratoriais, realizados para avaliação da função hepática foram: ALT e AST, GGT, fosfatase alcalina (FA), bilirrubina direta (BD), albumina (ALB), uréia, creatinina (CREAT), contagem de plaquetas (PLQ), hemoglobina (Hgb), leucócitos (LEUC) e RNI, que apresentaram discretas alterações na forma HEC e HED. (Tabela 4,5,6,7)

TABELA 4: Resultados de aminotransferase da alanina (ALT) e do aspartato (AST), contagem de plaquetas (PLQ) e de leucócitos (LEUC), em pacientes portadores de esquistossomose mansoni

RESULTADOS DE EXAMES LABORATORIAIS					
Forma Clínica	n	ALT (b)	AST (a)	PLQ (c)	LEUC(d)
FI	18	22,00 $\pm$ 9,68	23,67 $\pm$ 6,83	235889 $\pm$ 47167	6798 $\pm$ 1966
HI	17	25,88 $\pm$ 12,28	25,47 $\pm$ 11,33	209529 $\pm$ 74895	6376 $\pm$ 1729
HEC	12	28,58 $\pm$ 13,86	32,42 $\pm$ 8,57	70583 $\pm$ 33727	3280 $\pm$ 1296
HED	17	34,41 $\pm$ 17,80	43,00 $\pm$ 17,3	136059 $\pm$ 124266	4670 $\pm$ 2048

FI forma intestinal; HI forma hepatointestinal; HEC forma hepatoesplênica compensada; HED forma hepatoesplênica descompensada

a Normal = até 37U/L; b Normal = até 40U/L; c Normal = 200000 a 300000; d Normal = 5000 a 8000

TABELA 5: Resultados de uréia e creatinina (CREAT) em pacientes portadores de esquistossomose mansoni

RESULTADOS DE EXAMES LABORATORIAIS			
FORMA CLÍNICA	n	URÉIA (a)	CREAT (b)
FI	17	27,41±7,12	0,50±0,24
HI	16	27,67±7,19	0,74±0,18
HEC	11	24,64±10,45	0,75±0,18
HED	15	27,93±11,00	0,76±0,22

FI forma intestinal; HI forma hepatointestinal; HEC forma hepatoesplênica compensada; HED forma hepatoesplênica descompensada
a Normal = 15 a 35mg/dL; b Normal = 0,51 a 1,2mg/dL

TABELA 6: Resultados de gamaglutamil transpeptidase (GGT), fosfatase alcalina (FA) e albumina (ALB), em pacientes portadores de esquistossomose mansoni

RESULTADOS DE EXAMES LABORATORIAIS			
FORMA CLÍNICA	GGT (a)	FA (b)	ALB (c)
FI	52,86±29,27(14)	157,82±228,25(17)	3,86±0,75(13)
HI	82,88±86,73(16)	138,47±75,92(17)	4,23±0,61(16)
HEC	34,75±14,11(12)	178,45±83,01(12)	3,71±0,49(11)
HED	117,94±116,78(17)	250,41±147,64(17)	3,48±0,50(16)

FI forma intestinal; HI forma hepatointestinal; HEC forma hepatoesplênica compensada; HED forma hepatoesplênica descompensada
a Normal = mulher 7 a 32 homem 10 a 50U/L; b Normal = mulher 80 a 306 homem 65 a 306U/L; c Normal = 3,5 a 5,0g/dL

TABELA 7: Resultados de bilirrubina direta (BD), RNI e hemoglobina (Hbg) em pacientes portadores de esquistossomose mansoni

RESULTADOS DE EXAMES LABORATORIAIS			
FORMA CLÍNICA	BD (a)	RNI(b)	Hbg (c)
FI	0,54±0,19(15)	1.0±0,0(16)	14,68±1,21(18)
HI	0,86±0,32(16)	1.0±0,0(17)	13,91±2,45(17)
HEC	1,33±0,77(10)	1.3±0,2 (11)	12,07±2,05(12)
HED	1,15±0,65(15)	1.35±0,22(15)	12,82±3,48(17)

FI forma intestinal; HI forma hepatointestinal; HEC forma hepatoesplênica compensada; HED forma hepatoesplênica descompensada

a Normal = 0,1 a 0,4mg/dL; b Normal = até 1,20; c Normal 12,5 a 15,5g/dL

4.2. ENDOSCOPIA DIGESTIVA

Dos oito pacientes com a forma HI da EM, cinco não apresentaram varizes de esôfago, dois tinham varizes grau 1 e um paciente tinha varizes grau 2. Dos 11 pacientes com a forma HEC, três não apresentaram varizes de esôfago, dois apresentaram varizes grau 1, dois apresentaram varizes grau 2 e quatro varizes grau 3. Os 17 pacientes com a forma HED tinham varizes de esôfago, sendo que três tinham varizes grau I, sete grau II e sete grau III (Tabela 8).

TABELA 8: Resultados do grau de varizes esofágicas em pacientes portadores de esquistossomose mansoni

FORMA CLÍNICA	GRAU DE VARIZES			
	GRAU 0	GRAU 1	GRAU 2	GRAU 3
HI (8)	5	2	1	
HEC (11)	3	2	2	4
HED (17)		3	7	7

HI forma hepatointestinal; HEC forma hepatoesplênica compensada; HED forma hepatoesplênica descompensada

4.3. RESULTADOS DE ULTRA-SONOGRAFIA

Os resultados de ultra-sonografia mostram uma diminuição no tamanho do lobo direito em 12 pacientes na FI e HI, em 11 pacientes da forma HEC e em 16 da forma HED. O lobo esquerdo esteve aumentado de tamanho em 12 pacientes da FI, 14 da HI, sete da HEC e 15 da HED. (Tabela 10)

Em relação ao espessamento periportal, encontramos uma média de valores, nas formas FI e HI ainda dentro do normal (até 3mm), sendo que na forma hepatoesplênica a média de valores do espessamento periportal esteve aumentado e na forma HEC a média foi de 4,17mm e na HED 4,5mm (Tabela 9).

O diâmetro da veia porta foi aumentado, principalmente na forma hepatoesplênica, como também a presença de veias colaterais (Tabela 10).

Em relação ao tamanho do baço, na forma HI encontramos dois pacientes com aumento do tamanho do baço, apesar de não ter sido detectado, no exame físico, esplenomegalia. Na forma hepatoesplênica, todos os pacientes apresentaram aumento do tamanho do baço, sendo que cinco pacientes já haviam sido submetidos à esplenectomia (Tabela 10).

O espessamento da parede da vesícula biliar, irregularidade da superfície hepática e alterações no parênquima hepático, foram os achados mais frequentes na forma hepatoesplênica da doença (Tabela 10).

A ascite foi detectada em cinco pacientes portadores da forma HED (Tabela 10).

O estadiamento da EM através de achados de ultra-sonografia mostrou que na FI, 16 pacientes tinham estadiamento grau 0 e dois grau I. Na forma HI, dez pacientes tinham estadiamento grau 0, cinco grau I e dois grau II. Na forma HEC, um paciente tinha estadiamento grau 0 e onze grau II, e na forma HED, um paciente tinha estadiamento grau 0, dez grau II e seis grau III (Tabela 11).

TABELA 9 – Resultados das medidas de espessamento periportal em pacientes portadores de esquistossomose mansoni

RESULTADOS DE ULTRA-SONOGRAFIA	
FORMA CLÍNICA	ESPESSAMENTO PERIPORTAL (mm)
FI	2,11±0,6
HI	2,83±0,9
HEC	4,17±1,1
HED	4,5±1,6
CONTROLE	0,8±0,6

FI forma intestinal; HI forma hepatointestinal; HEC forma hepatoesplênica compensada; HED forma hepatoesplênica descompensada

Tabela 10 – Resultados de ultra-sonografia em pacientes portadores de esquistossomose mansoni

RESULTADOS DE ULTRA-SONOGRAFIA					
ACHADOS DE ULTRA-SOM	FORMA CLINICA				CONTROLES
	FI	HI	HEC	HED	
Aumento do lobo esquerdo do figado	12/18	14/17	7/12	15/17	0/18
Diminuição do lobo direito do figado	12/18	12/17	11/12	17/17	0/18
Aumento do tamanho do baço	0/18	2/17	12/12	12/17*	0/18
Espessamento da parede da vesícula biliar	0/18	3/17**	10/12	13/17**	0/18
Aumento do diâmetro da veia porta	1/18	4/17	11/12	6/17	0/18
Irregularidade da superfície hepática	0/18	2/17	9/12	15/17	0/18
Presença de vasos colaterais	0/18	0/17	5/12	13/17	0/18
Presença de alterações do parênquima hepático	2/18	3/17	10/12	15/17	0/18
Presença de ascite	0/18	0/17	0/12	5/17	0/18

FI forma intestinal; HI forma hepatointestinal; HEC forma hepatoesplênica compensada; HED forma hepatoesplênica descompensada

* pacientes submetidos à esplenectomia ** pacientes submetidos à colecistectomia

Tabela 11: Estadiamento da esquistossomose mansoni através de ultra-sonografia em relação à forma clínica.

ESTADIAMENTO				
FORMA CLÍNICA	GRAU 0	GRAU 1	GRAU 2	GRAU 3
FI(18)	16	0	02	
HI(17)	10	05	02	
HEC(12)	01		11	
HED(17)	01		10	06

FI forma intestinal; HI forma hepatointestinal; HEC forma hepatoesplênica compensada; HED forma hepatoesplênica descompensada

4.4. ANÁLISE DE COLÁGENO TIPO IV

A média de valores da concentração de colágeno tipo IV, em pacientes portadores de EM, foi de $92,34 \pm 54,37$ ng/ml (máximo de 325,42 e mínimo de 35,12 ng/ml). Essa média nas formas clínicas foi de: FI $82,68 \pm 51,23$ ng/ml (máximo de 272,53 e mínimo de 36,82 ng/ml); HI $107,74 \pm 70,91$ ng/ml (máximo de 325,42 e mínimo de 35,69 ng/ml); HEC $86,59 \pm 42,03$ ng/ml (máximo de 180,81 e mínimo de 35,12 ng/ml); HED $135,15 \pm 60,86$ ng/ml (máximo de 284,38 e mínimo de 57,75 ng/ml). Em pacientes submetidos à esplenectomia a média foi de $117,59 \pm 21,92$ ng/ml (máximo de 143,54 e mínimo de 85,86 ng/ml). Nos indivíduos normais, controles, a média de valores foi de $57,18 \pm 18,04$ ng/ml (máximo de 111,52 e mínimo de 35,67 ng/ml) (Tabela 12).

TABELA 12: Resultados da determinação de colágeno tipo IV em controles e em pacientes portadores de esquistossomose mansoni

RESULTADOS DE COLÁGENO TIPO IV (ng/ml)				
CONTROLES	FI	HI	HEC	HED
(n= 18)	(n=18)	(n=17)	(n=12)	(n=17)
81.42	88.86	65.82	123.02	100.38
58.42	107.50	325.42	97.26	131.45
50.66	76.35	105.90	180.81	94.95
67.19	53.21	69.97	53.21	284.39
57.76	60.41	74.91	91.12	72.78
42.67	101.94	77.79	53.21	143.54*
48.78	272.52	90.37	123.02	131.45*
45.69	57.76	35.69	35.12	85.11
71.37	45.69	93.41	69.27	116.40*
45.69	72.08	120.52	37.97	116.40
65.13	36.82	109.90	77.08	85.86*
35.69	71.37	89.61	98.04	210.72
39.13	71.37	78.51		57.76
44.48	94.94	135.73		110.71*
111.52	94.18	233.82		238.94
55.79	62.42	61.08		144.42
59.74	58.42	63.09		172.40
48.16	62.42			

FI forma intestinal HI forma hepatointestinal HEC forma hepatoesplênica compensada HED forma hepatoesplênica descompensada

* pacientes submetidos à esplenectomia

4.5. ANÁLISE DE LAMININA

A média de valores de laminina em pacientes portadores de EM foi de $367,30 \pm 112,64$ ng/ml (máximo de 951,16 e mínimo de 188,16 ng/ml). Em relação à forma clínica, os valores médios foram de: FI $326,42 \pm 79,85$ ng/ml (máximo de 452,99 e mínimo de 188,16 ng/ml); HI foi de $373,44 \pm 94,01$ ng/ml (máximo de 610,50 e mínimo de 214,77 ng/ml); HEC $437,90 \pm 184,86$ ng/ml (máximo de 951,16 e mínimo de 299,05 ng/ml); HED $436,73 \pm 69,48$ ng/ml (máximo de 567,47 e mínimo de 317,53 ng/ml). Em pacientes submetidos à esplenectomia foi de $447,70 \pm 74,98$ ng/ml (máximo de 544,74 e mínimo de 376,93 ng/ml). Nos indivíduos normais, controles, a média de valores foi $289,74 \pm 50,91$ ng/ml (máximo de 415,50 e mínimo de 284,93 ng/ml). (Tabela 13)

TABELA 13: Resultados da determinação de laminina em controles e em pacientes portadores de esquistossomose mansoni

RESULTADOS DE LAMININA (ng/ml)				
CONTROLES	FI	HI	HEC	HED
(n= 18)	(n=18)	(n=17)	(n=12)	(n=17)
188,16	254,93	368,24	310,13	379,41
276,95	427,99	342,22	352,12	518,27
308,89	349,65	283,08	488,10	329,86
257,37	283,08	331,10	315,06	464,26
284,31	354,60	214,76	360,80	437,98
254,93	429,24	459,25	429,24	544,73*
323,69	315,06	318,76	384,38	503,17*
245,16	253,71	354,60	311,36	434,23
291,68	452,99	354,60	299,05	317,52
294,14	333,57	268,38	601,63	376,92*
259,82	241,51	371,96	451,74	378,17*
259,82	295,37	379,41	951,15	567,47
311,36	251,27	478,05		435,48*
415,51	371,96	311,36		435,48
324,92	399,31	445,48		439,23
285,54	429,24	610,50		413,01
375,68	243,95	456,75		449,24
257,37	188,16			

FI forma intestinal HI forma hepatointestinal HEC forma hepatoesplênica compensada HED forma hepatoesplênica descompensada

* pacientes submetidos à esplenectomia

4.6. COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS

4.6.1. Comparação entre medidas do espessamento periportal

A média de medidas do espessamento periportal esteve aumentada em todas as formas clínicas, sendo considerado significativo ($p < 0,05$), nas formas HEC e HED, em relação aos controles. Comparando as médias entre formas clínicas, o aumento foi significativo ($p < 0,05$) entre HEC e FI, entre HED e FI e entre HED e HI. (Tabela 14)

TABELA 14: Comparação entre médias de medidas do espessamento periportal em pacientes portadores de esquistossomose mansoni

COMPARAÇÃO ENTRE MEDIDAS DO ESPESSAMENTO PERIPORTAL	
FORMA CLÍNICA X FORMA CLÍNICA	VALOR DE p
CONTROLE X HEC	$<0,05^*$
CONTROLE X HED	$<0,05^*$
CONTROLE X HI	$>0,05$
CONTROLE X FI	$>0,05$
HEC X HED	$>0,05$
HEC X HI	$>0,05$
HEC X FI	$<0,05^*$
HED X HI	$<0,05^*$
HED X FI	$<0,05^*$
HI X FI	$>0,05$

FI forma intestinal; HI forma hepatointestinal; HEC forma hepatoesplênica compensada; HED forma hepatoesplênica descompensada

* significativo

4.6.2. Comparação entre médias de valores de colágeno tipo IV

A média dos valores de colágeno tipo IV foi elevada significativamente ($p<0,0001$) na EM, quando comparada com controles. Em relação à forma clínica, observa-se aumento em todas as formas clínicas, sendo estatisticamente significativa nas formas HI, HED e HED com esplenectomia ($p<0,05$), em relação aos controles. (Tabela 15).

Quando se compararam as médias das diversas formas clínicas, encontrou-se uma diferença estatística entre a forma FI e HED ($p<0,05$). (Tabela 16)

A comparação entre médias de valores nas formas HED e HED com esplenectomia não mostrou diferença estatística ($p=0,7919$). (Tabela 16)

TABELA 15: Comparação entre médias dos valores de colágeno tipo IV na esquistossomose mansoni e em suas formas clínicas, em relação aos controles

COMPARAÇÃO ENTRE VALORES DE COLÁGENO TIPO IV	
FORMA CLÍNICA X CONTROLES	VALOR DE p
ESQUISTOSSOMOSE MANSONI	$<0,0001^*$
FI	$>0,05$
HI	$<0,05^*$
HEC	$>0,05$
HED	$<0,05^*$
HED COM ESPLENECTOMIA	$<0,05^*$

FI forma intestinal; HI forma hepatointestinal; HEC forma hepatoesplênica compensada; HED forma hepatoesplênica descompensada

* Significante

TABELA 16: Comparação entre médias dos valores de colágeno tipo IV nas diversas formas clínicas da esquistossomose mansoni

COMPARAÇÃO ENTRE VALORES DE COLÁGENO TIPO IV	
FORMA CLÍNICA X FORMA CLÍNICA	VALOR DE p
HEC * HED	>0,05
HEC * HI	>0,05
HEC * FI	>0,05
HED * HI	>0,05
HED * FI	<0,05*
HI * FI	>0,05
HED * HED COM ESPLENECTOMIA	>0,05

FI forma intestinal; HI forma hepatointestinal; HEC forma hepatoesplênica compensada; HED forma hepatoesplênica descompensada

* significante.

4.6.3. Comparação entre as médias de valores de laminina

Foram realizadas comparações entre médias dos valores de laminina, que estiveram elevadas significativamente, quando comparadas com controles, na EM ($p < 0,0001$). Em relação às formas clínicas, houve um aumento em todas elas, sendo estatisticamente significante nas formas HI, HEC, HED e HED com esplenectomia ($p < 0,05$), em relação ao controle. (Tabela 17).

Quando se compararam as médias das diversas formas clínicas, encontrou-se uma diferença estatística entre a forma HI e HED ($p < 0,05$). (Tabela 18)

A comparação das médias dos valores obtidos nas formas HED e HED com esplenectomia revelou resultados sem diferença estatisticamente significante ($p = 0,9999$). (Tabela 18)

TABELA 17: Comparação entre médias de valores de laminina na esquistossomose mansoni e em suas formas clínicas, em relação aos controles

COMPARAÇÃO ENTRE VALORES DE LAMININA	
FORMA CLÍNICA X CONTROLES	VALOR DE p
ESQUISTOSSOMOSE MANSONI	<0,0001*
FI	>0,05
HI	<0,05*
HEC	<0,05*
HED	<0,05*
HED COM ESPLENECTOMIA	<0,05*

FI forma intestinal; HI forma hepatointestinal; HEC forma hepatoesplênica compensada; HED forma hepatoesplênica descompensada

* Significante

TABELA 18: Comparação entre médias de valores de laminina nas diversas formas clínicas da esquistossomose mansoni

COMPARAÇÃO ENTRE VALORES DE LAMININA	
FORMA CLÍNICA X FORMA CLÍNICA	VALOR DE p
HEC * HED	>0,05
HEC * HI	>0,05
HEC * FI	>0,05
HED * HI	>0,05
HED * FI	<0,05*
HI * FI	>0,05
HED * HED COM ESPLENECTOMIA	>0,05

FI forma intestinal; HI forma hepatointestinal; HEC forma hepatoesplênica compensada; HED forma hepatoesplênica descompensada

* significante.

4.7. ANÁLISE DE CORRELAÇÃO LINEAR:

Foram realizadas correlações entre medidas de espessamento periportal ao ultra-som e média de valores de colágeno tipo IV e laminina e entre média de valores de laminina e média de valores de colágeno tipo IV, nas diversas formas clínicas da EM.

4.7.1. Correlação entre espessamento periportal e determinação de colágeno tipo IV

Não foi encontrada correlação positiva entre medidas de espessamento periportal ao ultra-som e as médias de valores de colágeno tipo IV nas diversas formas clínicas da EM ($p > 0,05$). (Tabela 19). (Figuras 7,8,9,10)

TABELA 19- Correlação entre medidas de espessamento periportal e médias de valores de colágeno tipo IV em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.

CORRELAÇÃO ENTRE ESPESSAMENTO PERIPORTAL E COLÁGENO TIPO IV		
FORMA CLÍNICA	VALOR DE r	VALOR DE p
FI	-0,02397	0,9291
HI	0,23884	0,3398
HEC	-0,37064	0,2168
HED	0,09819	0,7077

FI forma intestinal; HI forma hepatointestinal; HEC forma hepatoesplênica compensada; HED forma hepatoesplênica descompensada

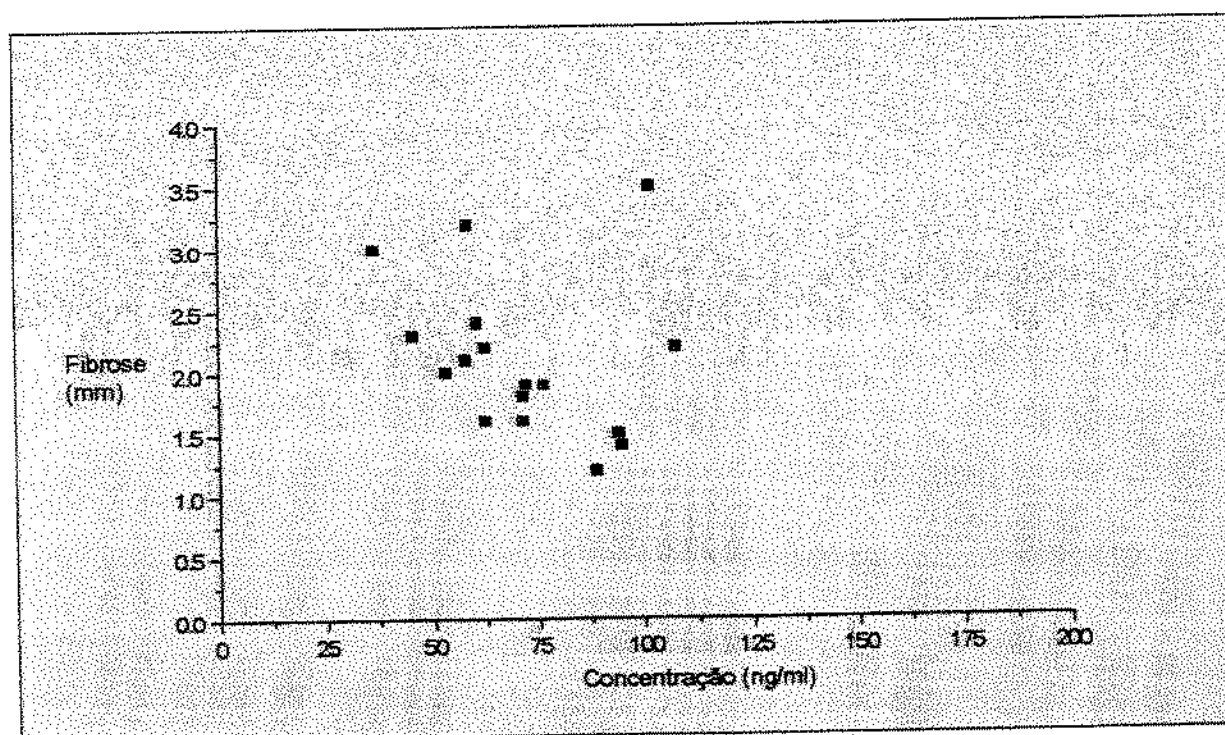


FIGURA 7 - Dispersão do espessamento periportal em relação à média de valores de colágeno tipo IV em pacientes portadores da forma intestinal da esquistossomose mansoni

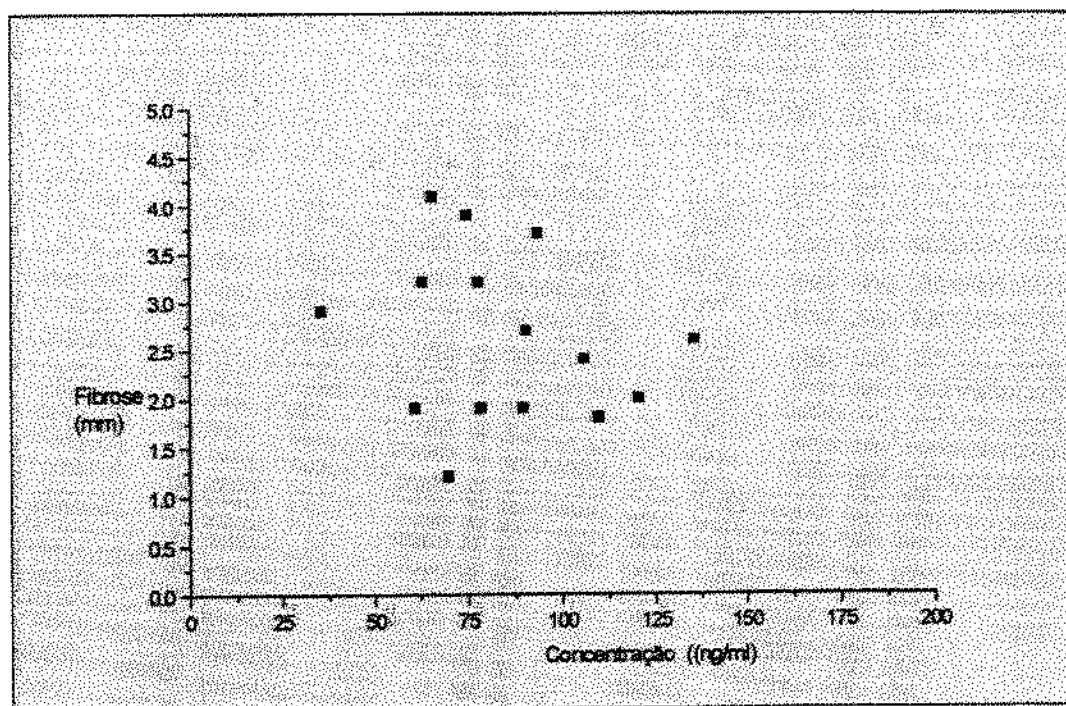


FIGURA 8 - Dispersão do espessamento periportal em relação à média de valores de colágeno tipo IV em pacientes portadores da forma hepatointestinal da esquistossomose mansoni

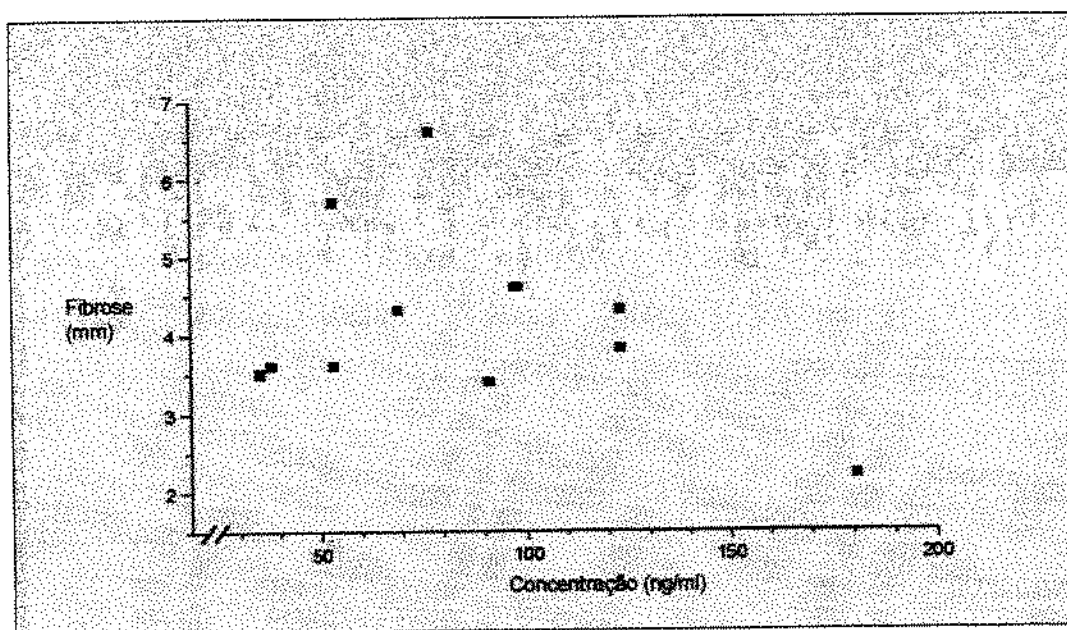


FIGURA 9 - Dispersão do espessamento periportal em relação à média de valores de colágeno tipo IV em pacientes portadores da forma hepatoesplênica compensada da esquistossomose mansoni

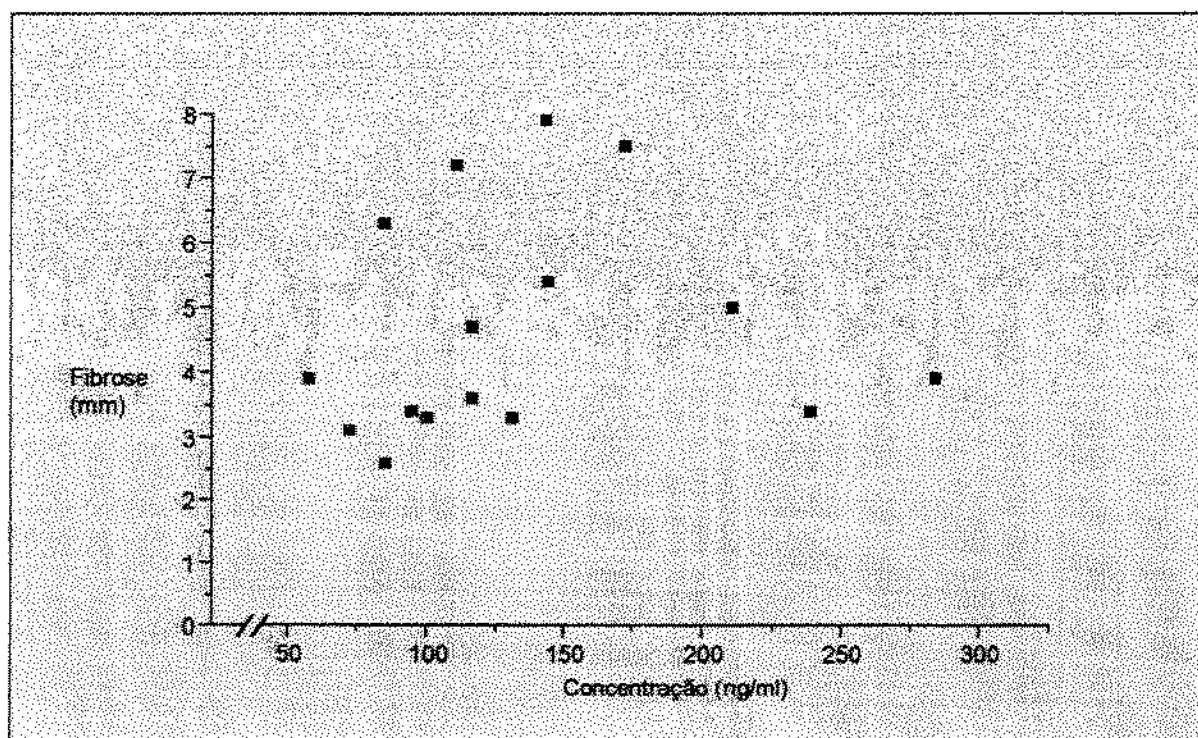


FIGURA 10 - Dispersão do espessamento periportal em relação à média de valores de colágeno tipo IV em pacientes portadores da forma hepatoesplênica descompensada da esquistossomose mansoni

4.7.2. Correlação entre espessamento periportal e determinação de laminina

Não foi encontrada correlação positiva entre medidas de espessamento periportal ao ultra-som e as médias dos valores de laminina, nas diversas formas clínicas de EM ($p < 0,05$) (Tabela 20). (Figuras 11, 12, 13, 14)

TABELA 20 - Correlação entre medidas de espessamento periportal e médias de valores de laminina em pacientes portadores de esquistossomose mansoni.

CORRELAÇÃO ENTRE ESPESSAMENTO PERIPORTAL E LAMININA		
FORMA CLÍNICA	VALOR DE r	VALOR DE p
FI	-0,22038	0,3795
HI	-0,37846	0,1341
HEC	0,04569	0,8879
HED	0,37259	0,2330

FI forma intestinal; FHI forma hepatointestinal; HEC forma hepatoesplênica compensada; HED forma hepatoesplênica descompensada

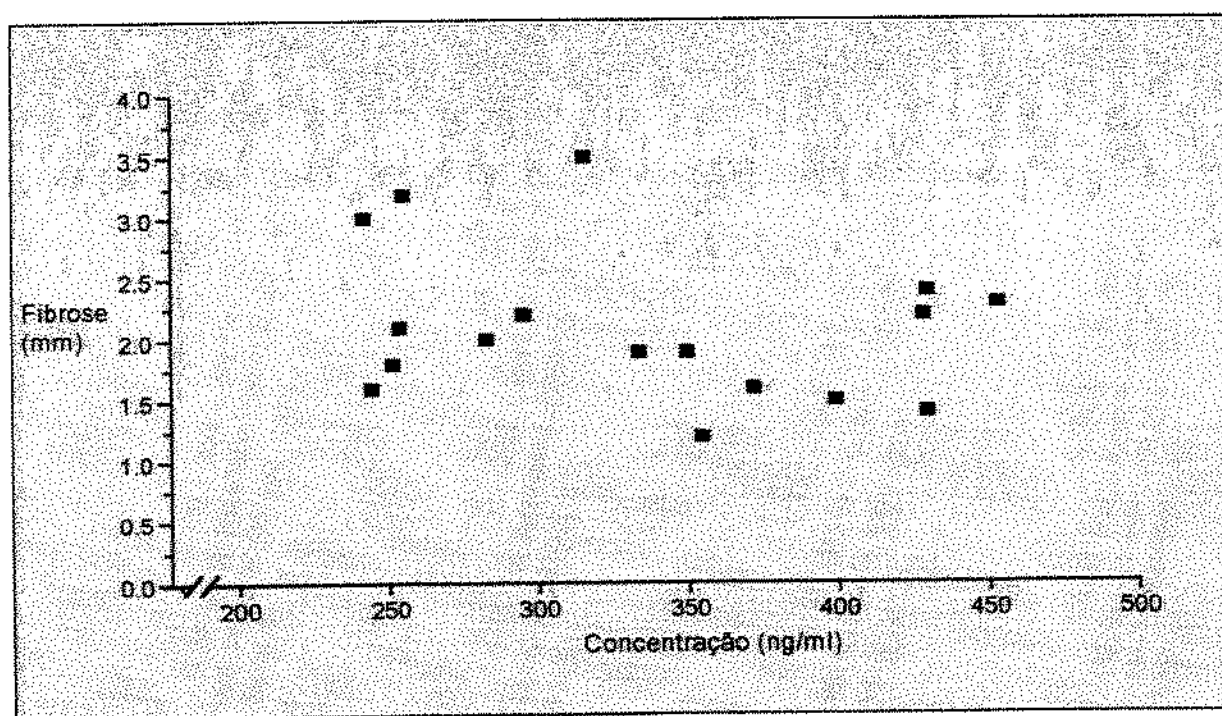


FIGURA 11 - Dispersão do espessamento periportal em relação à média de valores de laminina em pacientes portadores da forma intestinal da esquistossomose mansoni

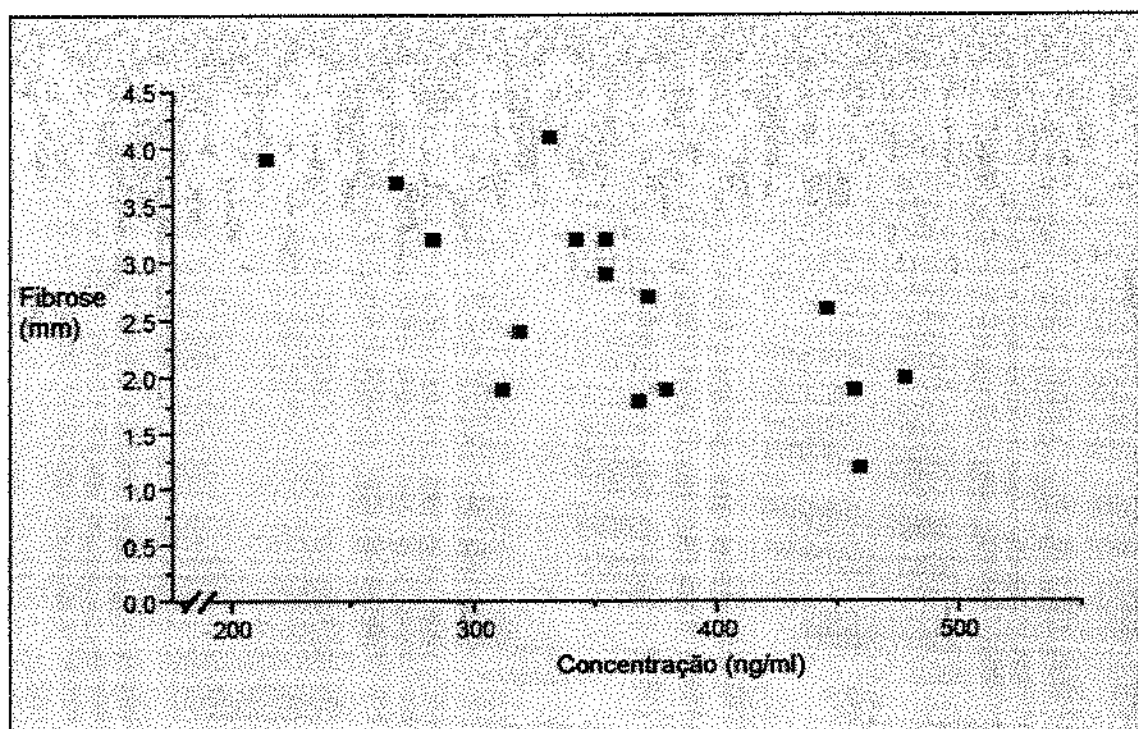


FIGURA 12 - Dispersão do espessamento periportal em relação à média de valores de laminina em pacientes portadores da forma hepatointestinal da esquistossomose mansoni

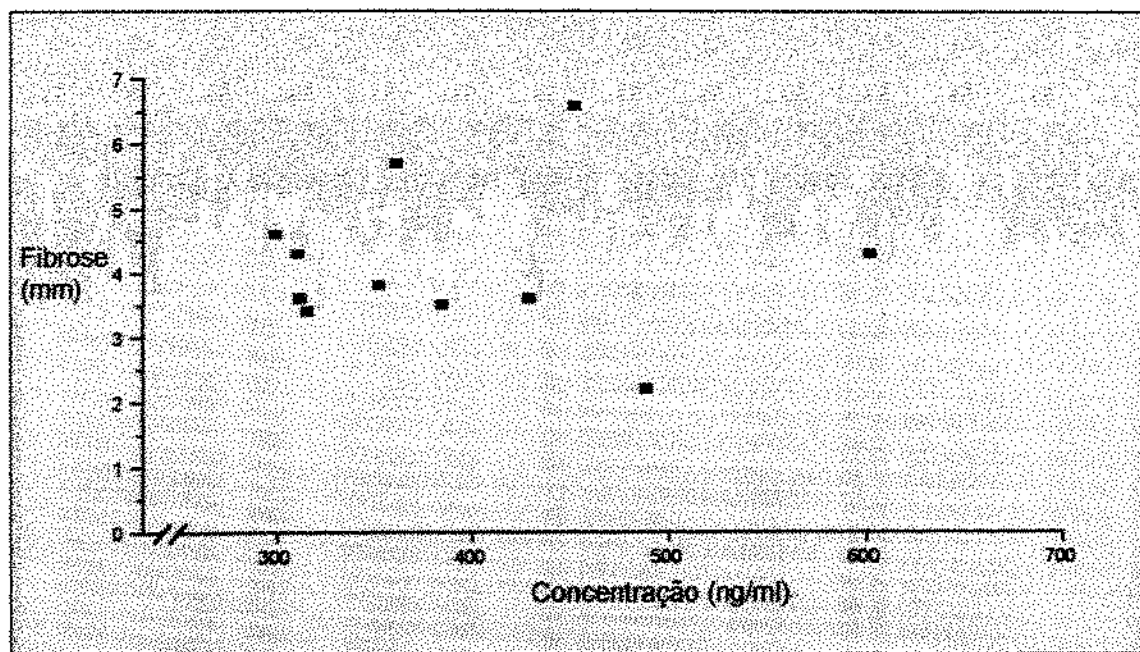


FIGURA 13 - Dispersão do espessamento periportal em relação à média de valores de laminina em pacientes portadores da forma hepatoesplênica compensada da esquistossomose mansoni

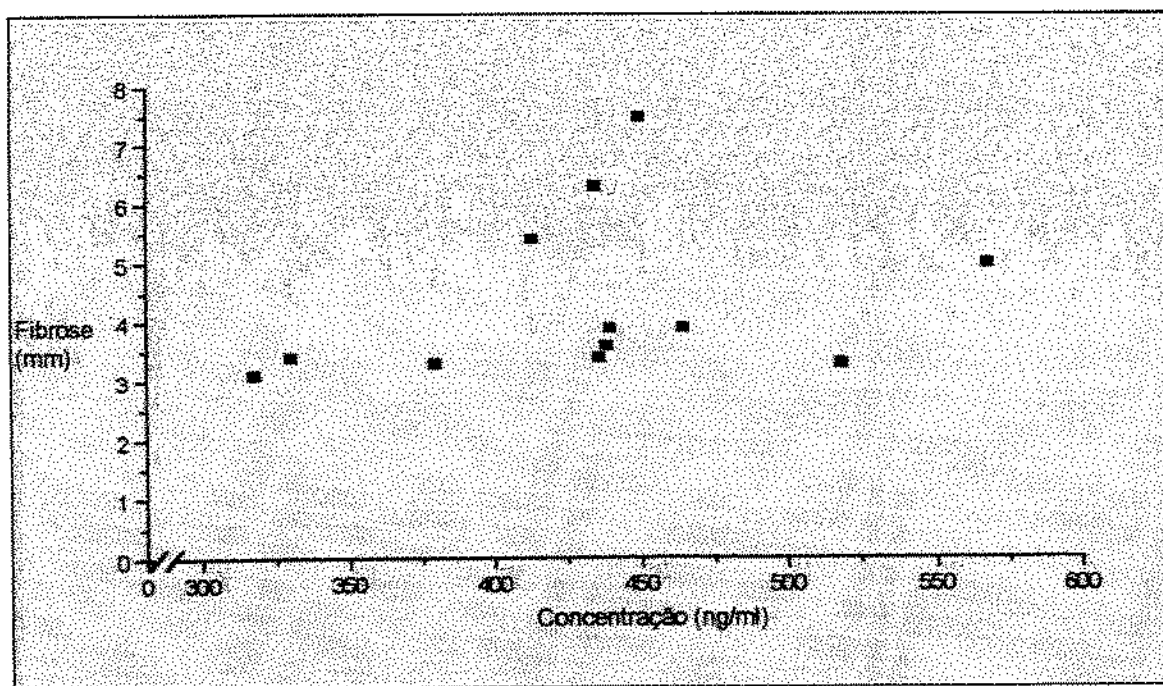


FIGURA 14 – Dispersão do espessamento periportal em relação à média de valores de laminina em pacientes portadores da forma hepatoesplênica descompensada da esquistossomose mansoni

4.7.3. Correlação entre colágeno tipo IV e laminina

Foi encontrada uma correlação positiva entre a média de valores de colágeno tipo IV e a média de valores de laminina na EM ($p < 0,0001$). Em relação às formas clínicas da doença e controles, foi encontrada uma correlação positiva nas formas HI e HED ($p < 0,05$) (Tabela 21) (Figuras 15,16,17,18,19,20).

TABELA 21: Correlação entre média de valores de colágeno tipo IV e média de valores de laminina em pacientes portadores de esquistossomose mansoni e em suas formas clínicas

CORRELAÇÃO ENTRE COLÁGENO TIPO IV E LAMININA		
FORMA CLÍNICA	VALOR DE r	VALOR DE p
ESQUISTOSSOMOSE MANSONI	0,46402	0,0001*
FI	0,74005	0,0004*
HI	0,12017	0,9741
HEC	0,01053	0,0625
HED	0,58318	0,0140*
CONTROLE	-0,12351	0,6253

FI forma intestinal HI forma hepatointestinal HEC forma hepatoesplênica compensada; HED forma hepatoesplênica descompensada

* significante

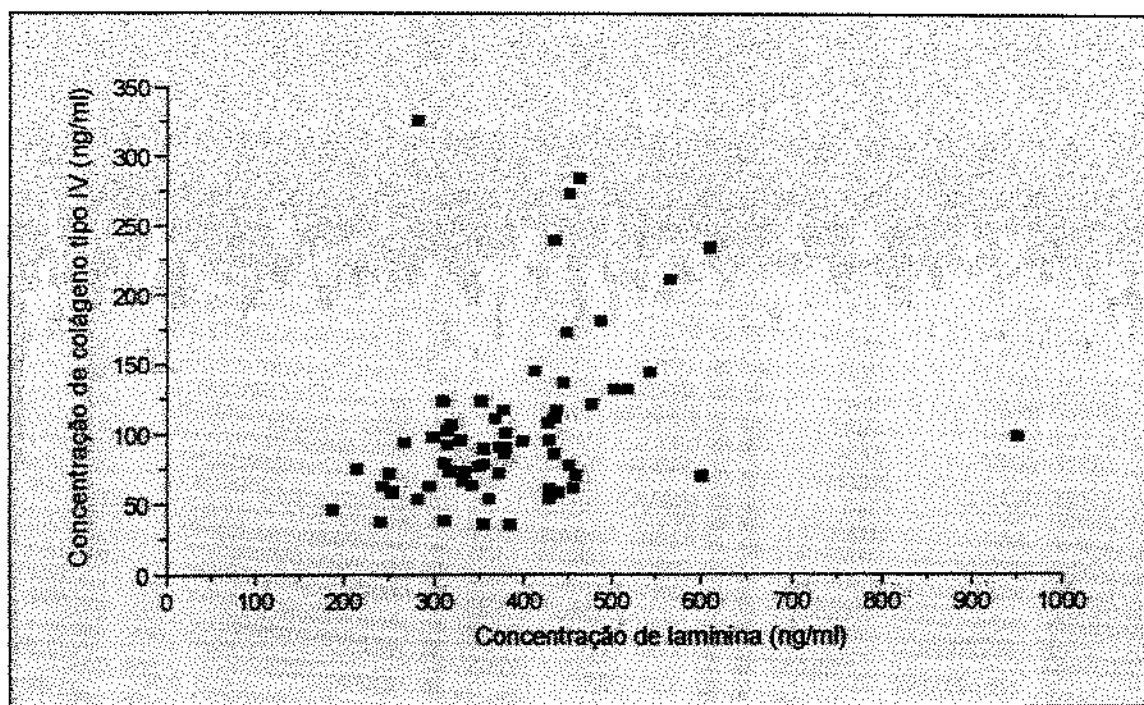


FIGURA 15: Dispersão da concentração de colágeno tipo IV em relação à concentração de laminina em pacientes portadores de esquistossomose mansoni

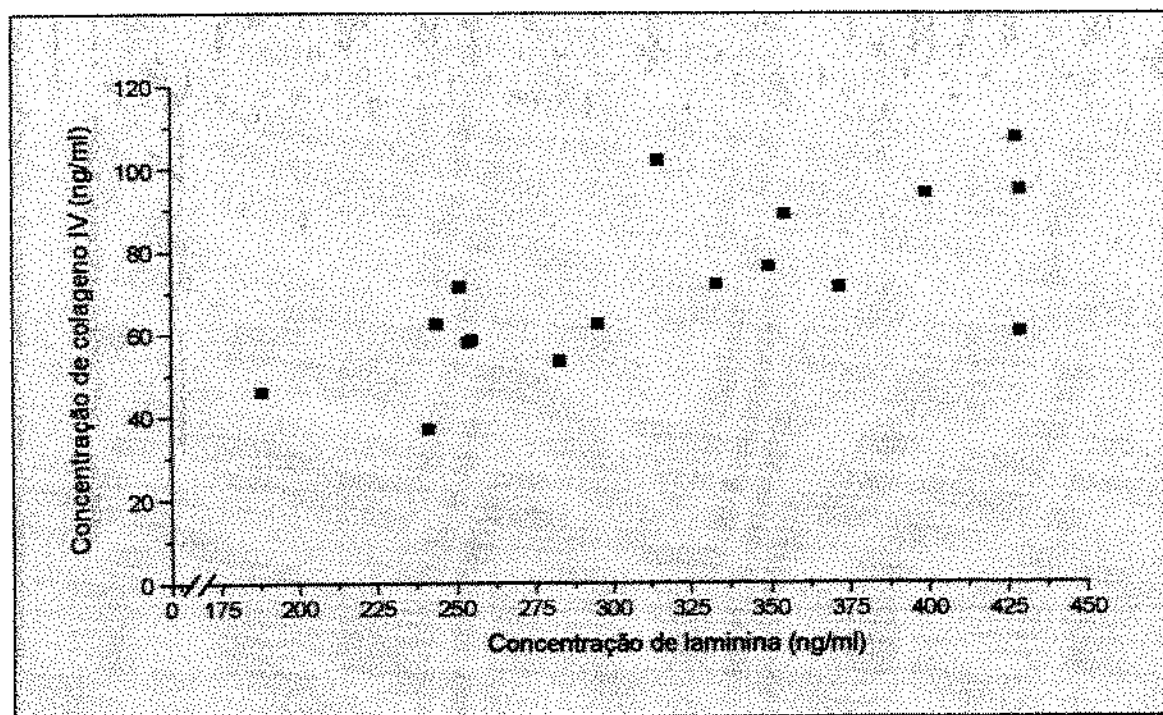


FIGURA 16: Dispersão da concentração de colágeno tipo IV em relação à concentração de laminina em pacientes portadores da forma intestinal da esquistossomose mansoni

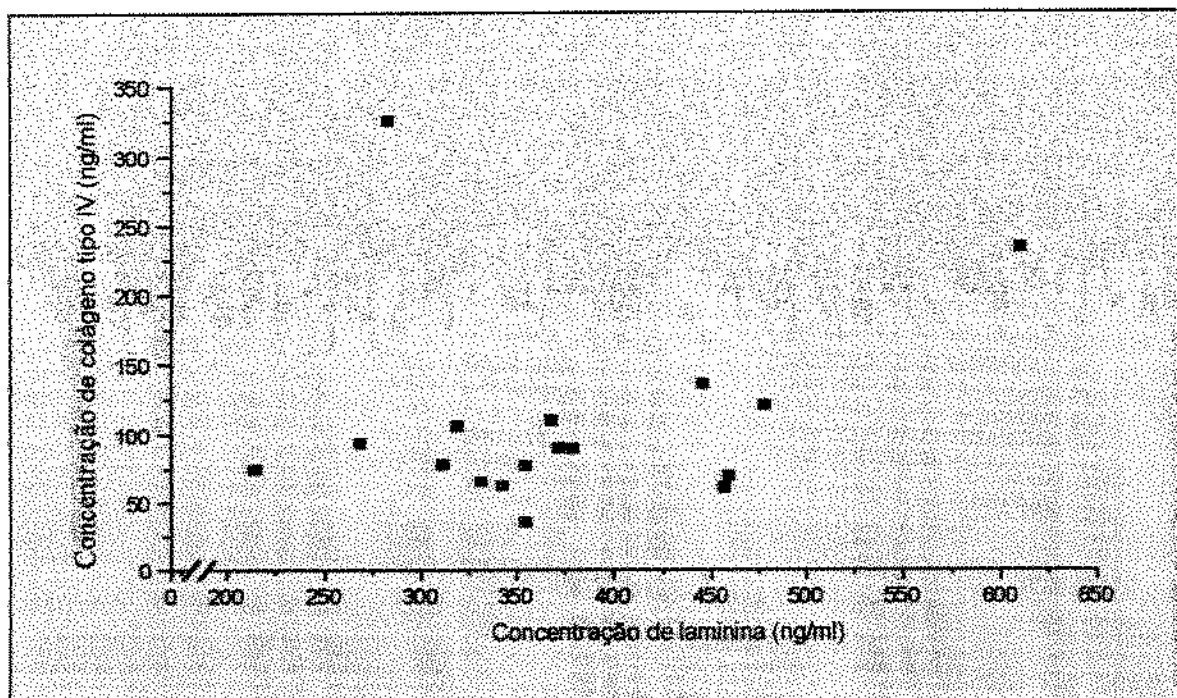


FIGURA 17: Dispersão da concentração de colágeno tipo IV em relação à concentração de laminina em pacientes portadores da forma hepatointestinal da esquistossomose mansoni

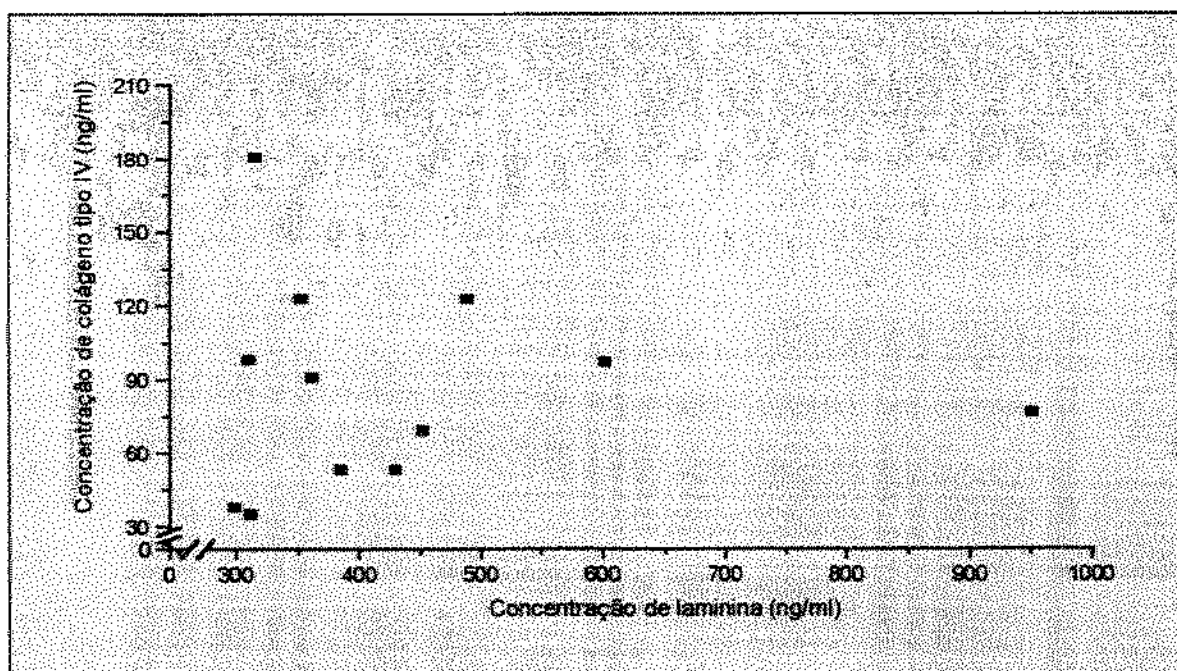


FIGURA 18: Dispersão da concentração de colágeno tipo IV em relação à concentração de laminina em pacientes portadores da forma hepatoesplênica compensada da esquistossomose mansoni

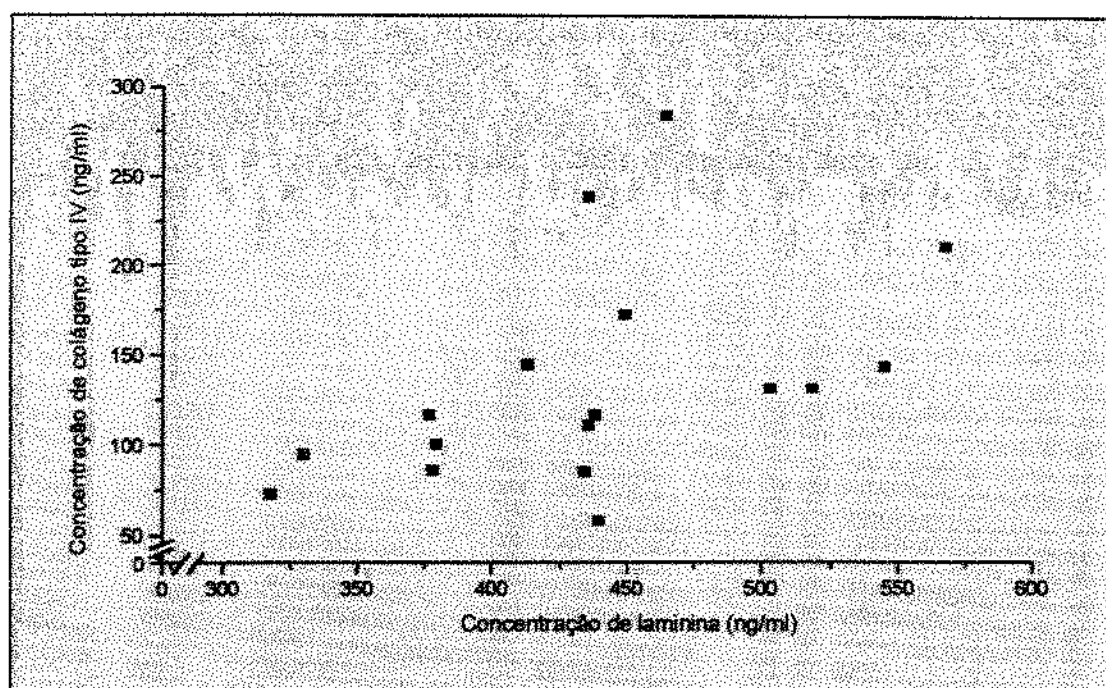


FIGURA 19: Dispersão da concentração de colágeno tipo IV em relação à concentração de laminina em pacientes portadores da forma hepatoesplênica descompensada da esquistossomose mansoni

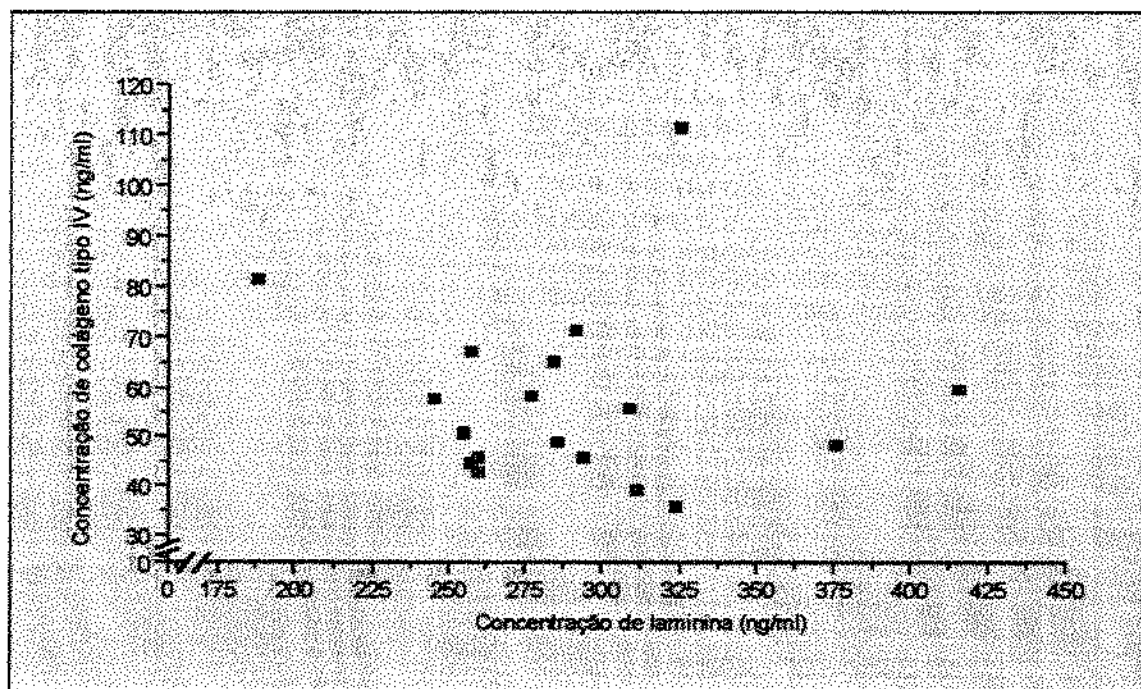


Figura 20: Dispersão da concentração de colágeno tipo IV em relação à concentração de laminina em controles

4.8. PONTO DE CORTE

4.8.1. Ponto de corte para colágeno tipo IV

Foi considerado ideal o ponto de corte no valor de 65,13ng/ml para colágeno tipo IV, atingindo para esse ponto, sensibilidade de 82% e especificidade de 70%. (Tabela 22)

TABELA 22: Ponto de corte para colágeno tipo IV

CONCENTRAÇÃO (ng/ml)	CLASSIFICAÇÃO		
	SIM	NÃO	TOTAL
> 65,13	22	6	28
≤ 65,13	5	14	19

4.8.2. Ponto de corte para laminina

Foi considerado ideal o ponto de corte no valor de 333,57ng/ml para laminina, atingindo para esse ponto, uma sensibilidade de 65.6% e especificidade de 59.6%. (Tabela 23)

TABELA 23: Ponto de corte para laminina

CONCENTRAÇÃO (ng/ml)	CLASSIFICAÇÃO		
	SIM	NÃO	TOTAL
>333,57	42	2	44
≤333,57	22	16	38

5. DISCUSSÃO

A EM ainda é um problema de saúde pública no Brasil, constituindo-se em uma doença que se expressa desde formas mais simples (forma intestinal e hepatointestinal) até formas mais graves da doença (hepatoesplênica), com instalação de fibrose periportal e hipertensão portal (Coutinho, 1968; Raia, Mies, Macedo, 1985; Coutinho & Domingues, 1993). À fibrose periportal vem sendo adicionadas outras alterações na patologia da EM, como a progressiva reação perissinusoidal com fibrose (Canto *et al.*, 1977) e modificações no espaço de Disse, levando a alterações do lóbulo hepático (Grimaud & Borojevic, 1977). Por esses aspectos, a EM é considerada a doença fibrótica mais freqüente no mundo (Coutinho & Domingues, 1993).

Por outro lado, vários estudos vêm sendo realizados, objetivando determinar o papel de componentes da MEC nas doenças hepáticas crônicas, que evoluem com progressiva fibrose, colagenização e capilarização sinusoidal. Na EM, alguns estudos demonstraram a existência de células de Ito (Júnior *et al.*, 1993) e a presença de componentes da MEC, em torno do granuloma, da fibrose periportal e dos sinusóides, havendo sido comprovada a presença de colágeno I e III em localização periportal e colágeno tipo IV e laminina como componentes da MB (Parise *et al.*, 1985; Grimaud *et al.*, 1987; Andrade *et al.*, 1992). Faltam, no entanto, determinar a importância desses componentes na EM e a correlação clínica com as várias alterações histológicas que ocorrem na doença.

Em geral reconhece - se que o parasito não produz graves distorções na arquitetura lobular do fígado, apesar das alterações histopatológicas conhecidas (Grimaud & Borojevic, 1977), o que confirmamos com os resultados de exames para avaliação da função hepática, que se mostraram dentro dos padrões de normalidade, salvo discretas alterações de aminotransferases, GGT, albumina e bilirrubina. Esses achados foram semelhantes aos encontrados por Parise & Rosa, (1992).

O diagnóstico das alterações hepáticas em geral é realizado por técnicas morfológicas, tendo, no entanto, suas limitações (Abdel-Wahad *et al.*, 1989; Wu, 1995).

Os métodos de imagem vêm se tornando referência para o diagnóstico das doenças hepáticas crônicas. Desses exames, o ultra-som tornou - se uma referência para o

diagnóstico da fibrose hepática na EM (Abdel-Latif *et al.*, 1981,; Cerri *et al.*, 1984; Fataar *et al.*, 1984; Abdel-Wahad *et al.*, 1989, Abdel-Wahad *et al.*, 1990; Domingues *et al.*, 1993;). Em 1991 a WHO (World Health Organization) padronizou um protocolo para realização de ultra-sonografia na EM, que foi usado em nosso trabalho. Nossos resultados mostraram aumento do espessamento periportal ao ultra-som em todas as formas da doença esquistossomótica. Apesar disto, as medidas do aumento do espessamento periportal nas formas FI e HI, não foram significantes em relação aos controles. Na forma hepatoesplênica, tanto compensada como descompensada houve um aumento significativo, não havendo, no entanto, diferença entre as formas hepatoesplênica compensada e descompensada.

O aumento do lobo esquerdo e a diminuição do lobo direito foram um achado freqüente em todas as formas da doença, inclusive a intestinal. A esplenomegalia foi confirmada ao ultra-som em todos os pacientes com a forma hepatoesplênica da doença. Entretanto, em dois pacientes com a forma HI o ultra-som mostrou aumento do tamanho do baço, apesar de não ter sido palpado ao exame físico.

O espessamento da parede da vesícula biliar (VB) foi um achado mais freqüente na forma hepatoesplênica da doença como já demonstrado anteriormente (Cerri *et al.*, 1984).

A detecção de líquido livre na cavidade peritoneal foi encontrado em cinco pacientes com a forma HED, revelando ascite. Vale a pena lembrar que nenhum destes pacientes era portador de outra doença hepática crônica que não a EM.

Esses achados sugerem ser o ultra-som um método adequado para o diagnóstico de fibrose hepática na forma hepatoesplênica da EM, avaliando a existência, ou não, de envolvimento hepático desde as formas iniciais da doença. Esses resultados são semelhantes aos de outros estudos, em que se utilizam outros métodos de avaliação (Abdel-Latif *et al.*, 1981,; Cerri *et al.*, 1984; Fataar *et al.*, 1984; Abdel-Wahad *et al.*, 1989, Abdel-Wahad *et al.*, 1990 Domingues *et al.*, 1993).

O colágeno tipo IV e seus peptídeos estiveram aumentados em vários estudos, utilizando método RIA e EIA, em várias doenças hepáticas crônicas, em especial na doença hepática alcoólica (Hayasaka *et al.*, 1990; Niemela *et al.*, 1990; Tsutsumi *et al.*, 1993; Murawaki *et al.*, 1994; Chossegros, 1995; Suou *et al.*, 1996; Ryhanen *et al.*, 1996). No nosso estudo, os níveis séricos de colágeno tipo IV, em pacientes portadores de EM, encontraram-se elevados quando comparados com controles ($p < 0,0001$).

Em relação às várias formas clínicas, os valores de determinação de colágeno tipo IV, foram elevados em todas elas, sendo estatisticamente significantes nas formas HI e HED ($p < 0,05$), ou seja, numa fase ainda inicial da doença e na fase tardia, onde já ocorrem alterações importantes, secundárias à fibrose periportal instalada. Shahin *et al.*, (1992), comparando as determinações de vários marcadores, sugeriram que o procolágeno IV, que é um peptídeo do colágeno tipo IV, aumentasse na fase tardia da EM e na fase inicial da doença alcoólica. Com esses resultados, sugeriram que o colágeno tipo IV fosse um marcador para progressão de fibrose. Nós observamos uma diferença significativa, quando comparados os valores de determinação nas formas HED e FI, o que poderia reforçar a idéia de o colágeno tipo IV ser considerado um marcador para progressão de doença. No entanto, a comparação entre nossos resultados e o trabalho de Shahin *et al.*, (1992) fica difícil pelo fato de que ele estudou um peptídeo do colágeno tipo IV, utilizando um método de radioimunoensaio e pelas diferenças na classificação da forma clínica. Esse estudo classificou os pacientes em uma forma clínica simples, sem envolvimento hepático, em uma forma hepatoesplênica compensada e em uma hepatoesplênica descompensada. Nós usamos uma classificação clínica da doença, considerando a forma intestinal como forma simples da doença, a forma hepatointestinal com envolvimento hepático (hepatomegalia), mas sem esplenomegalia clínica, ficando, nesse grupo mesmo, os pacientes que viessem a apresentar aumento do tamanho do baço detectado no ultra-som. Consideramos ainda uma forma hepatoesplênica quando detectada a presença de hepatoesplenomegalia, ao exame físico. Portanto, essas diferenças entre as formas de classificação da doença talvez esteja contribuindo para resultados com diferentes dados.

Tsutsumi *et al.*, (1993), usando o mesmo método usado no nosso estudo, mediram o conteúdo de colágeno tipo IV no tecido hepático e os níveis séricos, em

pacientes portadores de doença hepática crônica, encontrando um aumento significativo de colágeno tipo IV e uma correlação positiva entre o conteúdo tecidual e os níveis séricos. Em outro estudo, Ueno *et al.*, (1992), estudaram o conteúdo tecidual e mediram níveis séricos de colágeno tipo IV em pacientes com várias doenças hepáticas: hepatite aguda viral, hepatite crônica e doença hepática alcoólica, usando métodos imunoenzimáticos (EIA) com dois anticorpos monoclonais. Encontraram aumento significativo desse componente, principalmente na doença hepática alcoólica, sendo que nos pacientes com cirrose alcoólica o aumento foi ainda maior que nos outros grupos. Os autores concluíram que o colágeno tipo IV pode ser um sensível marcador para fibrose ativa.

Em nosso estudo, avaliamos uma possível correlação entre colágeno tipo IV e a fibrose hepática, detectada ao ultra-som, através das medidas de espessamento periportal. O ultra-som mostrou que essas medidas são estatisticamente significantes, na forma clínica hepatoesplênica, além de permitirem a realização de um estadiamento da fibrose hepática na EM. Nossos resultados mostraram não existir correlação positiva entre as medidas de espessamento portal, e a determinação sérica de colágeno tipo IV, em nenhuma das formas clínicas estudadas. Como os valores de colágeno tipo IV foram elevados, podemos sugerir, que estes aumentos podem não ser considerados em virtude do processo fibrótico que se instala na doença esquistossomótica.

Procuramos ainda comparar as médias de valores de determinação de colágeno tipo IV, de pacientes portadores da forma HED, que haviam sido submetidos à esplenectomia. Os valores de determinação de colágeno tipo IV, em pacientes esplenectomizados, foram semelhantes aos de pacientes não esplenectomizados, não havendo uma diferença estatisticamente significativa ($p=0,7919$). Esse fato nos faz sugerir que apesar das alterações encontradas no baço de pacientes portadores da EM, não devem ocorrer mudanças importantes na membrana basal esplênica, não havendo provavelmente aumento na deposição de colágeno tipo IV no baço.

Com os resultados encontrados, em relação ao colágeno tipo IV, podemos sugerir que o colágeno tipo IV pode ser considerado um marcador que reflete alterações de membrana basal, podendo isto significar que, na EM, ocorre uma reação sinusoidal, desde a fase inicial da doença. Há inclusive a possibilidade de o colágeno tipo IV ser considerado

um marcador para progressão de doença, já que no presente estudo, houve uma diferença significativa entre forma HED e HI, quando comparadas as médias de valores nessas formas clínicas. Como existem poucos trabalhos na literatura sobre colágeno tipo IV, na EM, ficamos sem parâmetro para mais discussões de nossos dados.

O ponto de corte encontrado para colágeno tipo IV foi de 65,13ng/ml, atingindo com esse corte uma sensibilidade de 82% e especificidade de 70%.

Em relação à laminina, os resultados foram semelhantes ao colágeno tipo IV em alguns aspectos. Os níveis séricos estão elevados estatisticamente na EM (0,0001), se comparados aos controles. Os níveis de laminina, usando métodos RIA e EIA, aumentam em várias doenças hepáticas crônicas, como doença hepática alcoólica, hepatite, cirrose hepática, como já demonstrado na literatura (Tseng *et al.*, 1983; Kropf, Gressner, Negwer, 1988; Annoni *et al.*, 1989; Misaki *et al.*, 1990; Niemela *et al.*, 1990; Lotterer *et al.*, 1992; Collazos, Díaz, Genolla, 1993; Tsutsumi *et al.*, 1993; Tsutsumi *et al.*, 1995).

Encontramos elevação na média dos valores de determinação de laminina em todas as formas clínicas da EM, sendo um aumento significativo nas formas HI, HEC e HED ($p < 0,05$), existindo uma diferença em relação ao colágeno tipo IV, que não mostrou aumento significativo na forma HEC. Parise & Rosa (1992), encontraram níveis significativamente elevados de laminina em pacientes portadores de EM, na forma HI e hepatoesplênica, em concordância com nosso estudo, utilizando um método de radioimunoensaio.

Comparando a média de valores de determinação de laminina nas formas clínicas, houve uma diferença significativa entre as formas HED e I ($p < 0,05$), sugerindo um aumento progressivo na doença, semelhante ao encontrado para o colágeno tipo IV. Parise & Rosa (1992), encontraram uma diferença significativa entre as forma hepatointestinal e intestinal, o que não encontramos em nosso estudo. Podemos sugerir que as médias dos valores de determinação de colágeno tipo IV e laminina aumentam com a progressão da doença, desde uma fase precoce, sem envolvimento hepático, à forma mais grave da doença, que é a forma HED, com alterações importantes no fígado, inclusive aparecimento de complicações como hipertensão portal.

Na forma HED, não houve diferença entre médias de valores na determinação de laminina em pacientes com esplenectomia e pacientes não esplenectomizados ($p=0,9999$), estando em concordância com os resultados para colágeno tipo IV. Borojevic & Grimaud (1980) demonstraram a existência de alterações de MB no fígado e baço de portadores de EM. Posteriormente Parise & Rosa (1992), concluíram em seu trabalho que alterações de laminina, na EM poderiam aparecer secundárias às alterações da MB do fígado e do baço. Nossos resultados estão em discordância com esses achados, sugerindo que o aumento desses componentes (laminina e colágeno tipo IV) deve-se às alterações relacionadas à MB do fígado, sem interferência de possíveis alterações de MB do baço. Esses dados também fazem-nos sugerir serem a laminina e o colágeno tipo IV marcadores específicos para doenças hepáticas.

Também não foi encontrada uma correlação positiva entre medidas de espessamento periportal e média de valores de determinação de laminina, em nenhuma forma clínica da EM, semelhante aos resultados obtidos com colágeno tipo IV, não havendo, portanto, uma relação direta entre aumentos de laminina e colágeno tipo IV e fibrose hepática.

O ponto de corte encontrado para laminina foi de 333,57ng/ml, com sensibilidade de 65,6% e especificidade de 59,6%.

Ao analisarmos a correlação entre média de valores de colágeno tipo IV e média de valores de laminina, encontramos uma correlação positiva nas formas clínicas FI e HED ($p<0,05$). Esses dados vêm confirmar os achados de valores não significantes de colágeno tipo IV na forma HEC, quando só foi detectado aumento de laminina. Por outro lado, como encontramos um aumento significativo quando comparamos as médias de valores entre forma HED e FI, podemos sugerir que os aumentos de colágeno tipo IV e laminina são progressivos, estando elevados na fase inicial e final da doença. Diferenciam-se na forma HEC, quando apenas a laminina está aumentada e os níveis plasmáticos de colágeno tipo IV retornam a valores mais baixos. Existem poucos trabalhos na literatura avaliando prováveis correlações entre colágeno tipo IV e laminina. Tsutsumi *et al.*, (1995) mostraram uma correlação entre colágeno tipo IV e laminina na fase inicial, em estudo realizado em pacientes com doença hepática alcoólica. Essa correlação diminuiu com a

progressão da fibrose, indicando assim que a síntese inicial de componentes de MEC na injúria hepática pode ser mais acentuada para colágeno tipo IV e laminina, e com a progressão da doença essa síntese pode mudar de intensidade. Em relação à EM, encontramos uma correlação entre colágeno tipo IV e laminina semelhante ao trabalho de Tsutsumi *et al.*, (1995). No entanto, questionamos se essa diferença não seria devido a dificuldades com a classificação clínica da doença, ou se a laminina estaria aumentada desde o início da doença, persistindo, assim, durante toda a evolução da injúria hepática. Já o colágeno tipo IV estaria aumentado no início do envolvimento hepático, depois haveria uma queda na concentração sérica e voltaria a aumentar na fase final da doença, já com alterações importantes. Levando em conta o fato de que ambos são componentes da MB, poderíamos, então, sugerir que têm um ciclo diferente, e, portanto, aparecem na circulação sangüínea em períodos diferentes.

Assim, acreditamos que os resultados demonstrados em nosso estudo sugerem que, apesar de colágeno tipo IV e laminina não terem correlação direta com a fibrose hepática, são importantes componentes no processo de formação dessa fibrose, podendo considerá-los marcadores de alterações de MB no fígado, e que provavelmente têm relação com a progressão da doença.

6. CONCLUSÃO

1- Os níveis séricos de colágeno tipo IV foram elevados em todas as formas clínicas da esquistossomose mansoni, sendo estatisticamente significantes nas formas hepatointestinal e hepatoesplênica descompensada, ou seja, numa fase ainda inicial da doença e na fase tardia, onde já ocorrem alterações importantes, secundárias à fibrose periportal instalada.

2- Os níveis séricos de laminina foram elevados em todas as formas clínicas da esquistossomose mansoni, sendo considerados significantes os aumentos nas formas hepatointestinal, hepatoesplênica compensada e descompensada, sugerindo que a laminina aumenta sua deposição desde uma fase inicial de envolvimento hepático, persiste durante a progressão da doença, até a fase final da evolução.

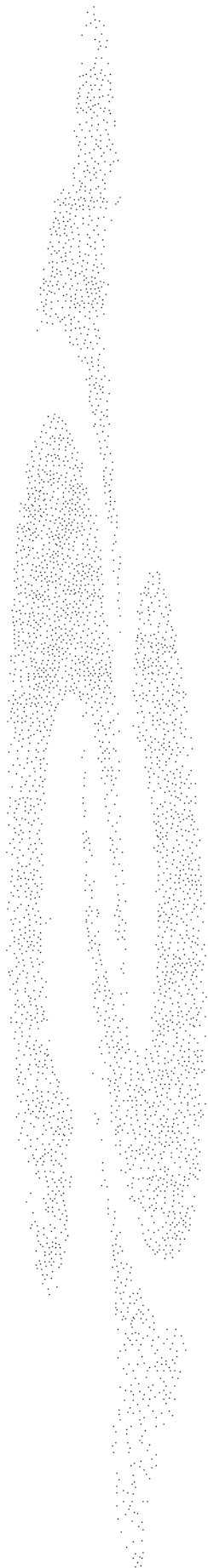
3- Em relação à ultra-sonografia, nosso estudo mostrou ser este um método eficaz para detecção de fibrose hepática na forma mais avançada da esquistossomose mansoni, quando o espessamento periportal é detectável no ultra-som.

4- Não foi encontrada correlação positiva entre achados de espessamento periportal, no ultra-som, e níveis séricos de colágeno tipo IV e laminina, nas diversas formas clínicas da esquistossomose mansoni.

5- Os aumentos nos níveis séricos de colágeno tipo IV e laminina na esquistossomose mansoni, desde a fase mais precoce da doença, pode ser considerado importante marcador de alteração de membrana basal, sugerindo que a fibrose perissinusoidal e a capilarização sinusoidal podem ocorrer precocemente na esquistossomose mansoni.

6- Os resultados sugerem ainda que, as alterações de colágeno tipo IV e laminina correspondem a alterações hepáticas, não havendo envolvimento do baço, pelo fato de não haver diferenças significantes entre os níveis séricos de colágeno tipo IV e laminina em pacientes portadores da forma hepatoesplênica descompensada, esplenectomizados ou não.

7- Por fim, foi encontrada uma correlação positiva entre os níveis séricos de colágeno tipo IV e de laminina na esquistossomose mansoni. Em relação às formas clínicas, encontramos uma correlação positiva entre os níveis séricos de colágeno tipo IV e de laminina nas formas intestinal e hepatoesplênica descompensada. Esses resultados sugerem que ocorre um aumento da síntese de componentes de matriz extracelular na injúria hepática, sendo que o colágeno tipo IV e a laminina aumentam desde a fase inicial da doença. Com a progressão, essa síntese pode diversificar de intensidade quanto ao colágeno tipo IV, mantendo-se a síntese acentuada de laminina, voltando na fase de descompensação ao aumento da síntese de colágeno tipo IV, além da laminina.



7. SUMMARY

The aim of this study was to evaluate liver fibrosis in schistosomiasis mansoni, measuring serum levels of type IV collagen and laminin, components of the basal membrane. Eighty-two individuals were studied, 64 of them presenting schistosomiasis and 18 as normal controls. In schistosomiasis, 18 patients presented intestinal form, 17 hepatointestinal, 12 compensated hepatosplenic and 17 uncompensated hepatosplenic form.

All patients carried out liver function tests, hepatitis B and hepatitis C serum markers, endoscopy and ultrasonography. The ultrasonography method was performed according to the World Health Organization protocol. Type IV collagen and laminin serum concentrations were determined by a sandwich enzyme immunoassay, using panassay IV - C and hLM kits respectively, with two monoclonal antibodies.

The mean serum type IV collagen in schistosomiasis patients was 92.34 ± 54.37 ng/ml, being high in all clinical forms. There was a significant increase in hepatointestinal and uncompensated hepatosplenic forms, compared to controls ($p < 0.05$).

The mean serum laminin was 367.30 ± 112.64 ng/ml again being high in all clinical forms. A significant increase in hepatointestinal, compensated and uncompensated hepatosplenic forms compared to controls took place ($p < 0.05$).

A significant difference was observed in type IV collagen as well as in laminin values when intestinal and uncompensated hepatosplenic forms were compared ($p < 0.05$). There was no difference in type IV collagen and laminin serum levels between splenectomized and non - splenectomized patients in uncompensated hepatosplenic form ($p > 0.05$). No correlation was found between type IV collagen and laminin levels and the periportal thickness, assessed by ultrasonography ($p > 0.05$).

These results show that there is an increase in the production of type IV collagen and laminin in schistosomiasis, during the initial stages of this liver disease. These findings indicate that perisinusoidal fibrosis as well as sinusoidal capillarization may occur in early illness, and also suggest that the high levels of type IV collagen and laminin are related to liver alterations without any interference from the spleen.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-LATIF, Z.; ABDEL-WAHAB, M. F.; EL-KADY, N.M. - Evaluation of portal hypertension in cases of hepatosplenic schistosomiasis using ultrasound. **J. Clin. Ultrasound.**, 9:409-412, 1981.
- ABDEL-WAHAB, M.F.; ESMAT, G.; MILAD, M.; ABDEL-RAZEK, S.; STRICKLAND, G.T. - Characteristic sonographic pattern of schistosomal hepatic fibrosis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, 40:72-76, 1989.
- ABDEL-WAHAB, M.F.; ESMAT, G.; NAROOZ, S.I.; YOSERY, A.; STRUEWING J.P.; STRICKLAND, G.T. - Sonographic studies of schoolchildren in a village endemic for *Schistosoma mansoni*. **Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.**, 84:69-73, 1990.
- ANDRADE, Z.A. - Contribution to the study of septal fibrosis of the liver. **Int. J. Exp. Path.**, 72:553-562, 1991.
- ANDRADE, Z.A.; PEIXOTO, E.; GUERRET, S.; GRIMAUD, J.A. - Hepatic connective tissue changes in hepatosplenic schistosomiasis. **Hum. Pathol.**, 23:566-573, 1992.
- ANDRADE, Z.A. & GRIMAUD, J.A. - Morphology of chronic collagen resorption: a study on the late stages of Schistosomal granuloma involution. **Am. J. Path.**, 132:389-399, 1988.
- ANDUS, T. & HOLSTEGE, A. - Cytokines and the liver in health and disease effects on liver metabolism and fibrogenesis. **Acta Gastro-Enterol. Belgica**, 58:236-254, 1994.
- ANDUS, T.; RAMADORI, G.; HEINRICH, P.C.; KNITTEL, T.; MEYER ZUM BUSCHENFELDE, K.H. - Cultured Ito cells of rat liver express the $\alpha 2$ -macroglobulin gene. **Eur. J. Biochem.**, 168:641-646, 1987.
- ANNONI, G.; COLOMBO, M.; CANTALUPPI, M.C.; KHLAT, B.; LAMPERTICO, P.; ROJKIND, M. - Serum type III procollagen peptide and laminin (Lam-P1) detect alcoholic hepatitis in chronic alcoholic abusers. **Hepatology**. 9:693-697, 1989.
- ARTHUR, M.J.P. - Degradation of matrix proteins in liver fibrosis. **Path. Res. Pract.**, 190:825-833, 1994.

- BALLARDINI, G.; FACCANI, A.; FALLANI, M.; BERTI, S.; VASI, V.; CASTALDINI, C.; BIAGINI, G.; GARBISA, S.; BIANCHI, F.B. - Sequential behavior of extracellular matrix glycoproteins in an experimental model of hepatic fibrosis. **Virchow Arch. [Cell Pathol.]**, **49**:317- 324, 1985.
- BISSEL, D.M. - Connective tissue metabolism and hepatic fibrosis: an overview. **Sem. Liver Dis.**, **10**:iii-iv, 1990.
- BISSEL, D.M.; FRIEDMAN, S.L.; MAHER, J.J.; ROLL, F.J. - Connective tissue biology and hepatic fibrosis: report of a conference. **Hepatology**, **11**:488 -498, 1990.
- BLAZEJEWSKI, S.; PREAUX, A.M.; MALLAT, A.; BROCHERIOU, I.; MAVIER, P.; DHUMEAUX, D.; HARTMANN, D.; SCHUPPAN, D.; ROSENBAUM, J. - Human myofibroblastlike cells obtained by outgrowth are representative of the fibrogenic cells in the liver. **Hepatology**, **22**:788-797, 1995.
- BOLARIN, D.M. & PHIL, D. - Sequential observation of pathomorphological alterations in liver of experimental murine schistosomiasis mansoni. **Acta Morphol. Hungarica**, **39**: 169-175, 1991.
- BOROJEVIC, R. & GRIMAUD, J.A. - Collagen fibers in enlarged basement membranes in human schistosomal liver and spleen. **Cell Mol. Biol.**, **26**:247-250, 1980.
- BURT, A.D. - C. L. Oakley lecture (1993) cellular and molecular aspects of hepatic fibrosis. **J. Path.**, **170**:105-114, 1993.
- CANTO, A.L.; SESSO, A.; DE BRITO, T. - Human chronic mansonian schistosomiasis - cell proliferation and fibre formation in the hepatic sinusoidal wall: a morphometric, light and electron-microscopy study. **J. Path.**, **123**:35-44, 1977.
- CASTILLA, A.; PRIETO, J.; FAUSTO, N. - Transforming growth factors $\beta 1$ and α in chronic liver disease. Effects of interferon alpha therapy. **New England J. Med.**, **324**:933-940, 1991.
- CERRI, G.G.; ALVES, V.A.F.; MAGALHÃES, A. - Hepatosplenic schistosomiasis mansoni: ultrasound manifestations. **Radiology**. **153**:777-780, 1984.

- CHOSSEGROS, P. Extracellular matrix serum markers (ECMSM) in alcoholic liver disease. **J. Hepatol.**, 22(suppl.2): 96-99, 1995.
- CLÉMENT, B.; GRIMAUD, J.A.; CAMPION, J.P.; DEUGNIER, Y.; GUILLOUZO, A. - Cell types involved in collagen and fibronectin production in normal and fibrotic human liver. **Hepatology**, 6: 225-234, 1986.
- CLÉMENT, B.; LORÉAL, O.; LEVAVASSEUR, F.; GUILLOUZO, A. - New challenges in hepatic fibrosis. **J. Hepatol.**, 18:1-4, 1993.
- CLÉMENT, B.; RESCAN, P.Y.; BAFFET, G.; LORÉAL, O.; LEHRY, D.; CAMPION, J.P.; GUILLOUZO, A. - Hepatocytes may produce laminin in fibrotic liver and in primary culture. **Hepatology**, 8:794-803, 1988.
- COLLAZOS, J.; DÍAZ, F.; GENOLLÁ, J. - Serum concentrations of laminin in cirrhosis of the liver. **Gut**, 34:974-976, 1993.
- CONOVER, W.J. - Practical nonparametric statistics. John Wiley & Sons Inc, 1971.
- COUTINHO, A. - Hemodynamic studies of portal hypertension in schistosomiasis. - **Am. J. Med.**, 44:547-556, 1968.
- COUTINHO, A.D. & DOMINGUES, A.L.C. Esquistossomose Mansonii. In: DANI, R.; CASTRO, L.P. **Gastroenterologia Clínica**. 3ª edição. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1993. Pag.1697-1728.
- DOMINGUES, A.L.C.; LIMA, A.R.F.; DIAS, H.S.; LEÃO, G.C.; COUTINHO, A. - An ultrasonographic study of liver fibrosis in patients infected with *Schistosoma mansoni* in north-east Brazil. **Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.**, 87:555-558, 1993.
- EL MENEZA, S.; OLDS, G.R.; KRESINA, T.F.; MAHMOUD, A.A.F. - Dynamics of hepatic connective tissue matrix constituents during murine *Schistosoma mansoni* infection. **Hepatology**, 9:50-56, 1989.
- EL-MOHANDES, M.; HASSANEIN, H.; EL-BADRAWY, N.; VOSS, B.; GERLACH, U. - Serum concentration of N-terminal procollagen peptide of collagen type III in schistosomal liver fibrosis. **Exp. Mol. Pathol.**, 46:383-390, 1987.

- FATAAR, S.; BASSIONY, H.; SATYANATH, S.; VASSILEVA, J.; HANNA, R.M. - Characteristic sonographic features of schistosomal periportal fibrosis. **A. J. R.**, **143**:69-71, 1984.
- FLETCHER, R.H.; FLETCHER, S.W.; WAGNER, E.H. - *Epidemiologia Clínica*. 2 ed. Artes Médicas, 1989.
- FLOREANI, A.; ZAPPALA, F.; MAZZETTO, M.; NACCARATO, R.; PLEBANI, M.; CHIARAMONTE, M. - Different response to ursodeoxycholic acid (UDCA) in primary biliary cirrhosis according to severity of disease. **Dig. Dis. Sci.**, **39**:9-14, 1994.
- FRIEDMAN, S.L.; ROCKEY, D.R.; MCGUIRE, R.F.; MAHER, J.J.; BOYLES, J.K.; YAMASAKI, G. - Isolated hepatic lipocytes and Kupffer cells from normal human liver: morphological and functional characteristics in primary culture. **Hepatology**, **15**:234-243, 1992.
- FUJIMOTO, N.; SEJIMA, H.; KYOTANI, M.; IWATA, K.; ICHIDA, T.; OOSHIMA, A. - One-step sandwich enzyme immunoassay for human laminin using monoclonal antibodies. **Clin. Chim. Acta**, **191**:211-220. 1990.
- GABRIELLI, G.B. & CORROCHER, R. - Hepatic fibrosis and serum markers: a review. **Dig. Dis.**, **9**:303-316, 1991.
- GABRIELLI, G.B.; FACCIOLO, G.; CASARIL, M.; CAPRA, F.; BONAZZI, L.; FALEZZA, G.; TOMBA, A.; BARACCHINO, F.; CORROCHER, R. - Procollagen III peptide and fibronectin in alcoholic-related chronic liver disease: correlation's with morphological features and biochemical tests. **Clin. Chim. Acta**, **179**:315-22, 1989.
- GALAMBOS, M.R.; COLLINS, D.C.; GALAMBOS, J.T. - A radioimmunoassay procedure for type III procollagen: its use in the detection of hepatic fibrosis. **Hepatology**, **5**:38-42, 1985.

- GRESSNER, A.M.; TITTOR, W.; KROPF, J. - The predictive value of serum laminin for hypertension in chronic liver disease. **Hepato-gastroenterol.**, **35**:95-100, 1988.
- GRIFFITHS, M.R.; KEIR, S.; BURT, A.D. - Basement membrane proteins in the space of Disse: a reappraisal. **J. Clin. Pathol.**, **44**:646-648, 1991.
- GRIMAUD, J.A. & BOROJEVIC, R. - Chronic human schistosomiasis mansoni. Pathology of Disse's space. **Lab. Invest.**, **36**:268-273, 1977.
- GRIMAUD, J.A.; BOROS, D.L.; TAKIYA, C.; MATHEW, R.C.; EMONARD, H. - Collagen isotypes, laminin, and fibronectin in granulomas of the liver and intestines of *Schistosoma mansoni*-infected mice. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, **37**:335-344, 1987.
- HAYASAKA, A.; SCHUPPAN, D.; OHNISHI, K.; OKUDA, K.; HAHN, E.G. - Serum concentrations of the carboxyterminal cross-linking domain of procollagen type IV (NC1) and the aminoterminal propeptide of procollagen type III (PIIP) in chronic liver disease. **J. Hepatol.**, **10**:17-22, 1990.
- HOGEMANN, B. & DOMSCHKE, W. - Hepatic fibrosis - current concepts of pathogenesis and therapy. **Gastroenterol. Japonica**, **28**:570-579, 1993.
- JIANG, Z.; YOU, D.Y.; CHEN, X.C.; WU, J. - Monitoring of serum markers for fibrosis during CCL₄-induced liver damage. Effects of anti - fibrotic agents. **J. Hepatol.**, **16**:282-289, 1992.
- JUNIOR, A.A.B.; PFEIFER, U.; ANDRADE, Z.A. - Role of fat-storing cells in schistosomal hepatic fibrosis of mice. **Virchows Archiv. B Cell Pathol.**, **64**:91-96, 1993.
- KLEMAN, J.P.; GIRY-LOZINGUEZ, C.; VAN DER REST, M. - Diversity and modularity of extracellular matrix macromolecules at the gene and protein levels. **J. Hepatol.**, **22**(suppl.2):3-9, 1995.

- KONDO, M.; MISZPUTEN, S.J.; LEITE-MOR, M.M.B.; PARISE, E.R. – The predictive value of serum laminin for the risk of variceal bleeding related to portal pressure levels. **Hepato-gastroenterol.**, **42**:542-545, 1995
- KRESINA, T.F.; HE, Q.; ESPOSITI, S.D.; ZERN, M.A. - Gene expression of transforming growth factor β 1 and extracellular matrix proteins in murine *schistosoma mansoni* infection. **Gastroenterology**. **107**:773-780, 1994.
- KROPF, J.; GRESSNER, A.M.; NEGWER, A. - Efficacy of serum laminin measurement for diagnosis of fibrotic liver diseases. **Clin. Chem.**, **34**: 2026-2030, 1988.
- LAURIE, G.W.; LEBLOND, C.P.; MARTIN, G.R. - Localization of type IV collagen, laminin, heparan sulfate proteoglycan, and fibronectin to the basal lamina of basement membranes. **J. Cell Biol.**, **95**:340-344, 1982.
- LEVAVASSEUR, F.; LORÉAL, O.; LIÉTARD, J.; THÉRET, N; L'HELGOUALC'H, A.; GUILLOUZO, A.; CLÉMENT, B. - Basement membrane gene expression in the liver. **J. Hepatol.**, **22**(suppl. 2):10-19, 1995.
- LORÉAL, O.; LEVAVASSEUR, F.; FROMAGET, C.; GROS, D.; GUILLOUZO, A.; CLÉMENT, B. - Cooperation of Ito cells and hepatocytes in the deposition of an extracellular matrix *in vitro*. **Am. J. Pathol.**, **143**:538-544, 1993.
- LORÉAL, O.; LAVAVASSEUR, F.; RESCAN, P.Y.; YAMADA, Y.; GUILLOUZO, A.; CLEMENT, B. - Differential expression of laminin chains in hepatic lipocytes. **FEBS.**, **290**:9-12, 1991.
- LOTTERER, E.; GRESSNER, A.M.; KROPF, J.; GROBE, E.; VON KNEBEL, D.; BIRCHER, J. – Higher levels of serum aminoterminal type III procollagen peptide, and laminin in alcoholic than in nonalcoholic cirrhosis of equal severity. **J. Hepatol.**, **14**:71-77, 1992.
- MAHER, J.J. & MCGUIRE, R.F. - Extracellular matrix gene expression increases preferentially in rat lipocytes and sinusoidal endothelial cells during hepatic fibrosis *in vivo*. **J. Clin. Invest.**, **86**:1641-1648, 1990.

- MARTINEZ-HERNANDEZ, A. & AMENTA, P.S. - The hepatic extracellular matrix. I. Components and distribution in normal liver. **Virchows Archiv. A Pathol. Anat.**, **423**:1-11, 1993a.
- MARTINEZ-HERNANDEZ, A. & AMENTA, P.S. - The hepatic extracellular matrix. II. Ontogenesis, regeneration and cirrhosis. **Virchows Archiv. A Pathol. Anat.**, **423**:77-84, 1993b.
- MIAO, S.; SURI, P.K.; SHU-LING, L.; ABRAHAM, A.; COOK, N.; MILOS, P.; ZERN, M.A. - Role of the cyclic AMP response element in rat fibronectin gene expression. **Hepatology**, **17**:882-90, 1993.
- MILANI, S.; HERBST, H.; SCUPPAN, D.; GRAPPONE, C.; HEINRICHS, O.E. - Cellular sources of extracellular matrix proteins in normal and fibrotic liver. Studies of gene expression by *in situ* hybridization. **J. Hepatol.**, **22**(suppl.2):71-76, 1995.
- MILMAN, N. & ALBECK, M.J. - Distinction between homozygous subjects with hereditary haemochromatosis using iron status markers and receiver operating characteristic (ROC) analysis. **Eur. J. Clin. Chem. Biochem.**, **33**:95-98, 1995.
- MINCIS, M.; BRAGA, L.L.C.; RUSSO, E.M.K.; NOVO, N.F.; JULIANO, Y. - Serum type III procollagen peptides in patients with hepatointestinal and compensated hepatoesplenic schistosomiasis forms. **Arq. Gastroenterol.**, **27**:24-29, 1990.
- MISAKI, M.; SHIMA, T.; YANO, Y.; SUMITA, Y.; KANO, U.; MURATA, T.; WATANABE, S.; SUZUKI, S. - Basement membrane-related and type III procollagen-related antigens in serum of patients with chronic viral liver disease. **Clin. Chem.**, **36**:522-524, 1990.
- MURAWAKI, Y.; IKUTA, I.; KODA, M.; YAMADA, S.; KAWASAKI, H. - Comparison of serum 7S fragment of type IV collagen and serum central triple-helix of type IV collagen for assessment of liver fibrosis in patients with chronic viral liver disease. **J. Hepatol.**, **24**: 148-154, 1996.

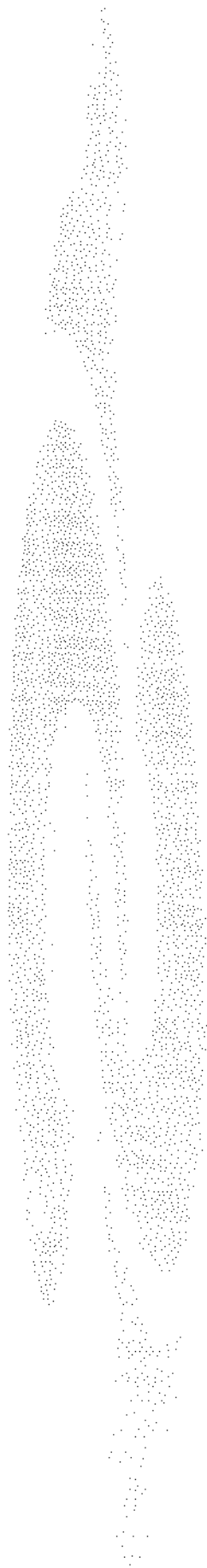
- MURAWAKI, Y.; IKUTA, Y.; KODA, M.; KAWASAKI, H. - Serum type III procollagen peptide, type IV collagen 7S domain, central triple-helix of type IV collagen and tissue inhibitor of metalloproteinases in patients with chronic viral liver disease: relationship to liver histology. **Hepatology**, **20**:780-787, 1994.
- MURAWAKI, Y.; KODA, M.; YAMADA, S.; KAWASAKI, H.; SHIMA, H.; BURKHARDT, H. - Serum collagenase activity in patients with chronic liver disease. **J. Hepatol.**, **18**:328-334, 1993.
- NAKAYAMA, Y.; TAKAHARA, T.; MIYABAYASHI, C.; ITOH, H.; WATANABE, A.; SASAKI, H.; MURAGAKI, Y.; OOSHIMA, A.; INOUE, K. - Ultrastructural localization of type IV collagen and laminin in the Disse space of rat liver with carbon tetrachloride induced fibrosis. **Liver**, **11**:260-271, 1991.
- NIEMELA, O.; RISTELI, J.; BLAKE, J.E.; RISTELI, L.; COMPTON, K.V.; ORREGO, H. -Markers of fibrogenesis and basement membrane formation in alcoholic liver disease. Relation to severity, presence of hepatitis, and alcohol intake. **Gastroenterology**, **98**:1612-1619, 1990.
- OKUNO, M.; MUTO, Y.; KATO, M.; MORIWAKI, H.; NOMA, A.; YAGAYA, Q.; TANABE, Y. - Chances in serum and hepatic levels of immunoreactive prolyl hydroxylase in two models of hepatic fibrosis in rats. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, **6**:271-277, 1991.
- PARÉS, A.; DEULOFEU, R.; GIMÉNEZ, A.; CABALLERÍA, L.; BRUGUERA, M.; CABALLERÍA, J.; BALLESTA, A.M.; RODÉS, J. - Serum hialuronate reflects hepatic fibrogenesis in alcoholic liver disease and is useful as a marker of fibrosis. **Hepatology**, **24**:1399-1403, 1996.
- PARISE, E.R. & ROSA, H. - Serum laminin in hepatic schistosomiasis. **Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.**, **86**:179-181, 1992.

- PARISE, E.R.; SUMMERFIELD, J.A.; HAHN, E.; WIEDMANN, K.H.; DOENHOFF, M.J. - Basement membrane proteins and type III procollagen in murine schistosomiasis. **Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.**, 79:663-670, 1985.
- POPPER, H. & UDENFRIEND, S. - Hepatic fibrosis. Correlation of biochemical and morphologic investigations. **Am. J. Med.**, 49:707-721, 1970.
- RAIA, S.; MIES, S.; MACEDO, A.L. - Portal hypertension in schistosomiasis. **Clinics in Gastroenterol.**, 14:57-82, 1985.
- ROJKIND, M. & PÉREZ-TAMAYO, R. - Liver fibrosis. In: HALL, D.A.; JACKSON, D.S. **International Review of Connective Tissue Research**. New Jersey. Academic Press, 1983. 10:333-393.
- RUWART, M.J.; WILKINSON, K.F.; RUSH, B.D.; VIDMAR, T.J.; PETERS, K.M.; HENLEY, K.S.; APPELMAN, H.D.; KIM, K.Y.; SCHUPPAN, D.; HAHN, E.G. - The integrated value of serum procollagen III peptide over time predicts hepatic hydroxyproline content and stainable collagen in a model of dietary cirrhosis in the rat. **Hepatology**. 10:801-806, 1989.
- RYHANEN, L.; STENBACK, F.; ALA-KOKKO, L.; SAVOLAINEN, E.-R. - The effect of malotilate on type III and type IV collagen, laminin and fibronectin metabolism in dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in the rat. **J. Hepatol.**, 24:238-245, 1996.
- SAKAI, Y.; ENGVALL, E.; HOLLISTER, D.W.; BURGESSON, R.E. - Production and characterization of a monoclonal antibody to human type IV collagen. **Am. J. Pathol.**, 108: 310-318. 1982.
- SAKAIDA, I.; MATSUMURA, Y.; KUBOTA, M.; KAYANO, K.; TAKENAKA, K.; OKITA, K. - The propyl 4-hydroxylase inhibitor HOE 077 prevents activation of Ito cells, reducing procollagen gene expression in rat liver fibrosis induced by choline-deficient L-amino acid-defined diet. **Hepatology**. 23:755-763. 1996.
- SCHUPPAN, D. - Connective tissue polypeptides in serum as parameters to monitor antifibrotic treatment in hepatic fibrogenesis. **J. Hepatol.**, 13(suppl.3):S17-S25, 1991.

- SCHUPPAN, D.; STOLZEL, U.; OESTERLING, C.; SOMASUNDARAM, R. - Serum assays for liver fibrosis. **J. Hepatol.**, **22**(suppl. 2):82-88, 1995.
- SHAHIN, M.; SCHUPPAN, D.; WALDHERR, R.; SAVOLAINEN, E.R.; ZALPUR, F.; RAHMAN, H.M.; EL SAHLY, A.M.; ABDEL RAZEK, S.M.; EL RUBY, O.; SEITZ, H.K. - Circulating enzyme activities of collagen turnover and undulin in patient with various degrees of schistosomiasis and alcoholic liver cirrhosis. **Hepato-Gastroenterol.**, **42**:22-26, 1995.
- SHAHIN, M.; SCHUPPAN, D.; WALDHERR, R.; RISTELLI, J.; RISTELLI, L.; SAVOLAINEN, E.R.; OESTERLING, C.; RAHMAN, H.M.A.; EL SAHLY, A.M.; RAZEK, S.M.A.; EL RUBY, O.; KOCH, A.; SEITZ, H.K. - Serum procollagen peptides and collagen type VI for the assessment of activity and degree of hepatic fibrosis in shistosomiasis and alcoholic liver disease. **Hepatology**. **15**:637-644, 1992.
- SILVA, L.C.F. - Proteoglycan and glycosaminoglycans synthesized by the hepatic granulomas isolated from schistosome-infected mice and by a granuloma-derived connective tissue cell line. **Brazilian J. Med. Biol. Res.**, **27**:2283-2300, 1994.
- SUOU, T.; YAMADA, S.; HOSHO, K.; YOSHIKAWA, N.; KAWASAKI, H. - Relationship between serum and hepatic 7S fragments of type IV collagen in chronic liver disease. **Hepatology**. **23**:1154-1158, 1996.
- TANIKAWA, K. - Serum marker for hepatic fibrosis and related liver pathology. **Path. Res. Pract.**, **190**:960-968, 1994.
- TRINCHET, J.C. - Clinical use of serum markers of fibrosis in chronic hepatitis. **J. Hepatol.**, **22**(suppl. 2):89-95, 1995.
- TRINCHET, J.C.; HARTMANN, D.J.; PATERON, D.J.; LAARIF, M.; CALLARD, P.; VILLE, G.; BEAUGRAND, M. - Serum type I collagen and N-terminal peptide of type III procollagen in chronic hepatitis. Relationship to liver histology and conventional liver tests. **J. Hepatol.**, **12**:139-144, 1991.

- TSENG, S.C.G.; SMUCKLER, E.A.; STERN, R. - Types of collagen synthesized by normal rat liver hepatocytes in primary culture. **Hepatology**. **3**:955- 963, 1983.
- TSUKAMOTO, H.; MATSUOKA, M.; FRENCH, S.W. - Experimental models of hepatic fibrosis: a review. **Sem. Liver Dis.**, **10**:56-65, 1990.
- TSUTSUMI, M.; TAKADA, A.; TAKASE, S.; OOSHIMA, A. - Connective tissue components in cultured parenchymal and nonparenchymal cells of rat liver. Immunohistochemical studies. **Lab. Invest.**, **58**:88-92, 1988.
- TSUTSUMI, M.; URASHIMA, S.; MATSUDA, Y.; TAKASE, S.; TAKADA, A. - Changes in type IV collagen content in livers of patients with alcoholic liver disease. **Hepatology**. **17**:820-827, 1993.
- TSUTSUMI, M.; URASHIMA, S.; NAKASE, K.; TAKADA, A. - Changes in laminin content in livers of patients with alcoholic liver disease. **Liver**, **15**:324-331, 1995.
- TSUTSUMI, M.; URASHIMA, S.; NAKASE, K.; TAKASE, S.; TAKADA, A. - Type IV collagen and laminin contents of livers from patients with alcoholic liver disease. **Alcohol & Alcohol**. **28**:45-52, 1993.
- UENO, T.; INUZUKA, S.; TORIMURA, T.; OOHIRA, H.; KO, H.; OBATA, K.; SATA, M.; YOSHIDA, H.; TANIKAWA, K. - Significance of serum type-IV collagen levels in various liver diseases. Measurement with a one-step sandwich enzyme immunoassay using monoclonal antibodies with specificity for pepsin-solubilized type-IV collagen. **Scand. J. Gastroenterol.**, **27**:513-520, 1992.
- VAN GOOL, J.; VAN TIEL, D.; DOENHOF, M.J.; VAN VUGT, H. - Effect of acute phase proteins, especially α 2-macro-globulin, on granuloma formation around *Shistosoma mansoni* eggs in the rat. **Parasitology**. **102**:49-56, 1991.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) - Meeting on ultrasonography in schistosomiasis: proposal for a practical guide to the standardized use of ultrasound in the assessment of pathological changes. Geneva, WHO, 1991. 14p.

- WU, J. - Detection of hepatic fibrogenesis: a review of available techniques. **Scand. J. Gastroenterol.**, 30:817-825, 1995.
- WU, J. & DANIELSSON, A. - Inhibition of hepatic fibrogenesis: a review of pharmacological candidates. **Scand. J. Gastroenterol.**, 29:385-391, 1994.
- WYLER, D.J.; WAHL, S.M.; CHEEVER, A.W.; WAHL, L.M. - Fibroblast stimulation in schistosomiasis. I. Stimulation in vitro of fibroblasts by soluble products of egg granulomas. **J. Infect. Dis.**, 144:254-262, 1981.
- YAMADA, S.; SUOU, T.; KAWASAKI, H.; YOSHIKAWA, N. - Clinical significance of serum 7S collagen in various liver diseases. **Clin. Biochem.**, 25:467-470, 1992.
- YOKOYA, Y.; IWATA, K.; MURAGAKI, Y.; SHIOTA, C.; MORIMOTO, Y.; INOUE, M.; ITOH, H.; NISHIOKA, S.; OOSHIMA, A. - Concentrations of serum laminin and type IV collagen in liver diseases assayed by a sandwich enzyme-immunoassay using monoclonal antibodies. **Clin. Chim. Acta**, 210:109-118, 1992.
- ZWINGENBERGER, K.; FELDMEIER, H.; QUEIROZ, J.A.N.; SIQUEIRA, J.G.V, AUTO, H.F.; ALENCAR, J.E.; BIENZLE, U. - Liver involvement in human schistosomiasis mansoni. Assessment by immunological and biochemical markers. **Parasitol. Res.**, 74:448-455, 1988a.
- ZWINGENBERGER, K.; HARMS, G.; MULLER, O.; STEINER, A.; BIENZLE, U. - Liver involvement in human schistosomiasis mansoni. Regression of immunological and biochemical disease markers after specific treatment. **Acta Tropica**, 45:263-275, 1988b.
- ZWINGENBERGER, K.; RICHTER, J.; VERGETTI, J.G.S.; FELDMEIER, H. - Praziquantel in the treatment of hepatosplenic schistosomiasis: biochemical disease markers indicate deceleration of fibrogenesis and diminution of portal flow obstruction. **Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.**, 84:252-256, 1990.

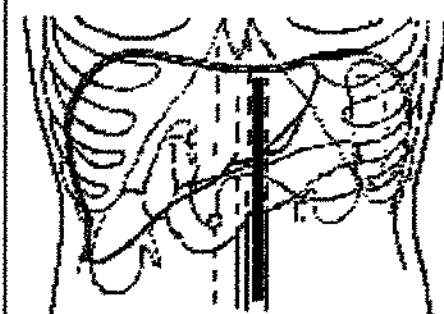


9. ANEXOS

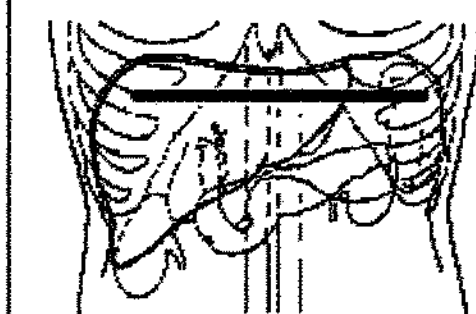
Anexo 1:

Posições para exame do fígado através de ultra-sonografia

Via longitudinal



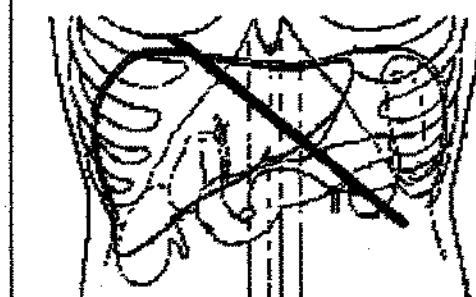
Via transversa



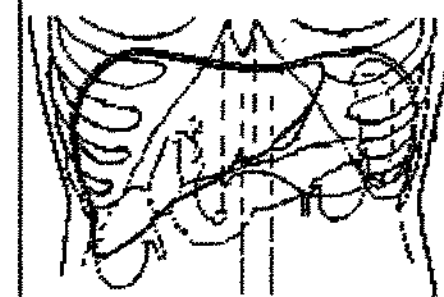
Via subcostal



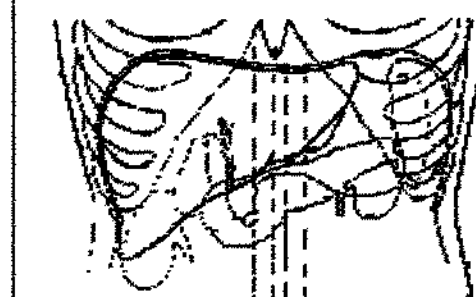
Via oblíqua com o paciente em decúbito lateral esquerdo



Via axilar média direita



Via axilar média esquerda



ANEXO. 2: Relação por sexo e idade em controles e pacientes portadores das formas intestinal (FI), hepatointestinal (HI), hepatoesplênica compensada (HEC) e hepatoesplênica descompensada (HED) da esquistossomose mansoni.

CONTROLES		FI		FHI		HEC		HED	
SEXO	IDADE	SEXO	IDADE	SEXO	IDADE	SEXO	IDADE	SEXO	IDADE
Fem	24	Masc	16	Fem	14	Fem	27	Fem	18
Masc	24	Fem	17	Masc	19	Fem	28	Masc	25
Masc	25	Fem	21	Masc	25	Fem	30	Masc	28
Masc	28	Masc	22	Fem	27	Fem	33	Masc	35
Fem	31	Masc	23	Fem	31	Fem	38	Fem	37
Masc	32	Masc	24	Fem	35	Fem	40	Masc	39
Fem	35	Fem	25	Fem	35	Fem	45	Fem	40
Fem	36	Masc	27	Masc	36	Fem	52	Masc	41
Fem	36	Masc	28	Fem	39	Masc	53	Masc	44
Masc	36	Fem	29	Fem	43	Masc	66	Masc	44
Fem	37	Fem	30	Fem	49	Masc	69	Masc	44
Fem	39	Fem	30	Masc	52	Masc	70	Masc	53
Masc	41	Masc	31	Fem	54			Masc	54
Fem	41	Masc	32	Fem	61			Masc	58
Fem	43	Masc	34	Masc	62			Masc	59
Fem	52	Fem	35	Fem	63			Masc	61
Masc	58	Fem	35	Masc	66			Fem	63
Fem	59	Masc	39						

ANEXO 3 : Resultados de aminotransferases da alanina (ALT) e do aspartato (AST), gamaglutamil transpeptidase (GGT); fosfatase alcalina (FA), bilirrubina direta (BD) em pacientes com a forma clínica intestinal da esquistossomose mansoni

RESULTADOS DE EXAMES LABORATORIAIS				
AST	ALT	GGT	FA	BD
15	12	16	20	0,3
15	13	22	62	0,3
18	14	25	65	0,3
15	13	20	55	0,4
26	25	90	130	0,4
19	14	25	72	0,45
22	18	54	86	0,5
24	23	76	124	0,5
19	15	42	76	0,6
20	15	43	82	0,6
22	20	72	101	0,6
23	22	74	123	0,6
25	25	76	127	0,7
27	25	105	139	0,9
30	25		195	0,9
34	33		202	
35	34			
37	50			

Valores normais: AST até 37UI/L; ALT até 40UI/L; GGT mulher 7 a 32 homem 10 a 50; FA mulher 80 a 306 homem 65 a 306; BD até 1,0

ANEXO 4 : Resultados de aminotranferases da alanina (ALT) e do aspartato (AST), gamaglutamil transpeptidase (GGT); fosfatase alcalina (FA), bilirrubina direta (BD) em pacientes com a forma clínica hepatointestinal da esquistossomose mansoni

RESULTADOS DE EXAMES LABORATORIAIS				
AST	ALT	GGT	FA	BD
8	7	22	25	0,5
18	18	33	110	0,5
15	12	24	60	0,6
16	16	25	95	0,6
20	22	38	120	0,6
22	24	70	130	0,6
18	18	26	109	0,7
20	24	66	130	0,8
28	28	100	175	0,8
17	17	25	97	0,9
26	27	71	134	1,0
36	37	315	208	1,0
27	27	99	172	1,1
33	30	127	20	1,1
35	35	259	205	1,5
40	38		267	
54	60		297	

Valores normais: AST até 37; ALT até 40; GGT mulher 7 a 32 homem 10 a 50; FA mulher 80 a 306 homem 65 a 306; BD até 1,0

ANEXO 5: Resultados de aminotranferases da alanina (ALT) e do aspartato (AST), gamaglutamil transpeptidase (GGT); fosfatase alcalina (FA), bilirrubina direta (BD) em pacientes com a forma clínica hepatoesplênica compensada da esquistossomose mansoni

RESULTADOS DE EXAMES LABORATORIAIS				
AST	ALT	GGT	FA	BD
21	14	13	18	0,6
24	18	24	146	0,6
26	24	28	156	0,7
22	16	17	124	1,1
26	21	26	155	1,2
33	24	30	176	1,3
38	32	43	211	1,3
35	25	38	177	1,4
36	32	40	191	1,9
38	35	47	254	3,2
42	36	52	355	
48	66	59		

Valores normais: AST até 37; ALT até 40; GGT mulher 7 a 32 homem 10 a 50; FA mulher 80 a 306 homem 65 a 306; BD até 1,0

ANEXO 6: Resultados de aminotranferases da alanina (ALT) e do aspartato (AST), gamaglutamil transpeptidase (GGT); fosfatase alcalina (FA), bilirrubina direta (BD) em pacientes com a forma clínica hepatoesplênica descompensada da esquistossomose mansoni

RESULTADOS DE EXAMES LABORATORIAIS				
AST	ALT	GGT	FA	BD
4	9	9	68	0,4
27	19	16	113	0,5
28	20	23	146	0,6
28	21	24	160	0,6
30	21	33	160	0,6
35	22	38	161	0,85
36	22	54	165	0,9
42	28	55	169	1,1
44	30	58	174	1,3
44	32	95	196	1,4
48	33	140	246	1,5
49	41	157	163	1,8
55	42	162	330	1,9
60	53	191	378	2,0
60	56	201	411	2,2
70	62	327	548	
71	74	422	569	

Valores normais: AST até 37; ALT até 40; GGT mulher 7 a 32 homem 10 a 50; FA mulher 80 a 306 homem 65 a 306; BD até 1,0

ANEXO 7: Resultados de hemoglobina (Hbg), albumina (ALB), leucócitos (LEUC), plaquetas (PLAQ), RNI em pacientes com a forma clínica intestinal da esquistossomose mansoni.

RESULTADOS DE EXAMES LABORATORIAIS				
Hbg	ALB	LEUC	PLAQ	RNI
11,8	3,69	4200	158000	1,0
13,1	3,6	4400	170000	1,0
13,4	3,6	4770	180000	1,0
13,5	3,8	5000	180000	1,0
13,9	3,9	5000	200000	1,0
14,2	3,9	5100	200000	1,0
14,3	3,9	5800	219000	1,0
14,5	4,0	6000	228000	1,0
14,7	4,15	16000	235000	1,0
14,9	4,2	7000	250000	1,0
15,1	4,2	7000	250000	1,0
15,4	4,3	7400	258000	1,0
15,7	5,0	7400	259000	1,0
15,7		8200	261000	1,0
15,8		9000	298000	
16,0		9100	300000	
16,0		9200	300000	
16,2		11200	300000	

Valores normais: Hbg mulher 12,5 a 14,5 homem 14,5 a 16,5; albumina 3,5 a 5,0; leucócitos 5000 a 8000; PLAQ 200000 a 300000; RNI até 1,0

ANEXO 8: Resultados de hemoglobina (Hbg), albumina (ALB), leucócitos (LEUC), plaquetas (PLAQ), RNI em pacientes com a forma clínica hepatointestinal da esquistossomose mansoni.

RESULTADOS DE EXAMES LABORATORIAIS				
Hbg	ALB	LEUC	PLAQ	RNI
10,5	3,44	4000	89000	1,0
10,7	3,54	4200	134000	1,0
11,6	3,55	4500	150000	1,0
11,7	3,60	5000	160000	1,0
11,8	3,80	5000	191000	1,0
11,9	3,82	5100	191000	1,0
13,1	3,91	5800	198000	1,0
13,4	4,01	5800	200000	1,0
13,5	4,20	6000	207000	1,0
14,0	4,40	6200	222000	1,0
14,2	4,60	6500	235000	1,0
15,2	4,70	7400	25000	
16,1	4,82	7900	250000	
16,2	4,86	8000	255000	
16,6	5,20	8200	260000	
16,8	5,28	9300	270000	
19,1		9500	300000	

Valores normais: Hbg mulher 12,5 a 14,5 homem 14,5 a 16,5; albumina 3,5 a 5,0; leucócitos 5000 a 8000; PLAQ 200000 a 300000; RNI até 1,0

ANEXO 9: Resultados de hemoglobina (Hbg), albumina (ALB), leucócitos (LEUC), plaquetas (PLAQ), RNI em pacientes com a forma clínica hepatoesplênica compensada da esquistossomose mansoni.

RESULTADOS DE EXAMES LABORATORIAIS				
Hbg	ALB	LEUC	PLAQ	RNI
9,0	3,03	1500	34000	1,0
9,5	3,25	1800	40000	1,09
10,1	3,31	2200	46000	1,17
11,2	3,43	2500	52000	1,28
11,4	3,48	2600	56000	1,29
11,8	3,55	2800	58000	1,33
13,2	3,78	3300	68000	1,36
13,4	3,95	3800	75000	1,38
13,5	4,02	4000	81000	1,42
14,5	4,42	4270	87000	1,56
15,2	4,56	4700	89000	1,71

Valores normais: Hbg mulher 12,5 a 14,5 homem 14,5 a 16,5; albumina 3,5 a 5,0; leucócitos 5000 a 8000; PLAQ 200000 a 300000; RNI até 1,0

ANEXO 10: Resultados de hemoglobina (Hbg), albumina (ALB), leucócitos (LEUC), plaquetas (PLAQ), RNI em pacientes com a forma clínica hepatoesplênica descompensada da esquistossomose mansoni.

RESULTADOS DE EXAMES LABORATORIAIS				
Hbg	ALB	LEUC	PLAQ	RNI
4,4	2,10	2000	29000	1,08
4,9	3,07	2300	30000	1,10
11,3	3,11	2700	32000	1,13
11,4	3,18	3200	41000	1,15
12,2	3,31	3400	44000	1,19
12,5	3,31	3700	47000	1,28
12,6	3,40	3800	50000	1,31
13,4	3,43	3900	54000	1,31
13,7	3,57	4000	73000	1,34
14,0	3,60	4800	78000	1,34
14,2	3,76	5000	145000	1,37
14,3	3,77	5100	152000	1,44
14,5	3,89	5500	194000	1,54
15,3	3,90	6100	305000	1,55
15,7	4,11	6200	322000	1,64
16,6	4,20	7500	338000	1,90
17,0		10200	379000	

Valores normais: Hbg mulher 12,5 a 14,5 homem 14,5 a 16,5; albumina 3,5 a 5,0; leucócitos 5000 a 8000; PLAQ 200000 a 300000; RNI até 1,0

ANEXO 11: Resultados de uréia e creatinina (CREAT) em pacientes portadores das formas clínicas intestinal (FI), hepatointestinal (FHI), hepatoesplênica compensada (HEC) e hepatoesplênica descompensada (HED) da esquistossomose mansoni.

RESULTADOS DE EXAMES LABORATORIAIS							
FI		FHI		HEC		HED	
UREIA	CREAT	UREIA	CREAT	UREIA	CREAT	UREIA	CREAT
20	0,10	15	0,15	10	0,61	17	0,40
20	0,19	19	0,50	11	0,61	17	0,50
20	0,20	20	0,56	15	0,64	17	0,55
21	0,20	20	0,60	21	0,65	18	0,60
24	0,25	23	0,71	24	0,66	22	0,60
25	0,35	23	0,74	24	0,76	22	0,68
25	0,45	24	0,76	30	0,79	28	0,68
25	0,55	25	0,80	32	0,80	23	0,72
25	0,55	25	0,80	34	0,81	23	0,79
25	0,60	26	0,80	36	0,86	25	0,85
26	0,60	28	0,81	43	1,02	26	0,88
30	0,61	28	0,83			31	0,89
31	0,68	29	0,84			36	0,93
33	0,76	29	0,90			38	0,97
34	0,80	33	0,90			46	1,06
34	0,80	34	1,01			53	1,17
48	0,82						

Valores normais: uréia 25 a 35; creatinina 0,20 a 1,50

FI forma intestinal; FHI forma hepatointestinal; HEC forma hepatoesplênica compensada; HED forma hepatoesplênica descompensada

ANEXO 12: Resultados da medida de espessamento periportal através de ultra-sonografia, realizada em pacientes portadores da forma clínica intestinal da esquistossomose mansoni

RESULTADOS DE ULTRA-SONOGRAFIA			
ESPESSAMENTO PERIPORTAL			
1ª MEDIDA(mm)	2ª MEDIDA(mm)	3ª MEDIDA(mm)	MÉDIA(mm)
0,8	1,2	1,8	1,2
1,1	1,4	1,8	1,4
1,4	1,4	2,0	1,6
1,4	1,8	1,4	1,5
1,4	1,5	1,8	1,6
1,5	2,2	1,8	1,8
1,7	2,2	2,9	2,2
1,8	2,4	2,6	2,3
1,8	2,4	2,2	2,1
1,8	2,0	2,0	1,9
2,0	2,6	1,4	2,0
2,0	2,2	2,4	2,2
2,0	1,8	2,0	1,9
2,4	2,9	4,4	3,2
2,9	2,2	1,8	2,3
3,6	4,0	2,8	3,5
4,0	1,4	2,2	2,4
4,3	2,5	2,2	3,0

Normal até 3mm

ANEXO 13: Resultados da medida de espessamento periportal através de ultra-sonografia realizada em pacientes portadores da forma clínica hepatointestinal da esquistossomose mansoni

RESULTADOS DE ULTRA-SONOGRAFIA			
ESPESSAMENTO PERIPORTAL			
1ª MEDIDA (mm)	2ª MEDIDA (mm)	3ª MEDIDA (mm)	MÉDIA (mm)
0,3	1,2	2,3	1,2
1,4	2,3	2,0	1,9
1,7	2,5	3,5	2,6
1,8	2,2	1,4	1,8
1,8	2,4	1,5	1,9
2,2	2,3	3,6	2,7
2,4	1,8	1,8	2,0
2,5	1,8	1,4	1,9
3,2	1,8	1,8	2,4
3,2	3,2	2,3	2,9
3,8	4,0	1,9	3,2
4,0	3,6	3,6	3,7
4,2	2,0	3,5	3,2
4,3	2,8	5,2	4,1
4,7	3,2	3,2	3,9
5,0	4,1	3,2	4,1
5,8	2,0	1,7	3,0

Normal até 3mm

ANEXO 14: Resultados da medida de espessamento periportal através de ultra-sonografia realizada em pacientes portadores da forma clínica hepatoesplênica compensada da esquistossomose mansoni

RESULTADOS DE ULTRA-SONOGRAFIA			
ESPESSAMENTO PERIPORTAL			
1ª MEDIDA (mm)	2ª MEDIDA (mm)	3ª MEDIDA (mm)	MÉDIA (mm)
2,2	1,8	2,5	2,2
2,9	2,7	5,0	3,5
3,6	4,3	3,5	3,8
3,8	6,1	4,0	4,6
4,0	4,7	2,0	3,6
4,0	4,7	5,0	4,6
4,9	10,2	6,6	7,2
5,7	2,9	2,2	3,6
5,8	3,2	4,0	4,3
6,3	4,0	2,6	4,3
7,8	6,1	3,2	5,7
8,0	7,0	5,0	6,6

Normal até 3mm

ANEXO 15: Resultados da medida de espessamento periportal através de ultra-sonografia realizada em pacientes portadores da forma clínica hepatoesplênica descompensada da esquistossomose mansoni

RESULTADOS DE ULTRA-SONOGRAFIA			
ESPESSAMENTO PERIPORTAL			
1ª MEDIDA (mm)	2ª MEDIDA (mm)	3ª MEDIDA (mm)	MÉDIA (mm)
2,6	3,5	3,8	3,3
2,6	3,2	2,0	2,6
3,0	2,0	5,0	3,3
3,2	1,7	4,3	3,1
3,6	3,5	3,0	3,3
3,8	3,5	2,8	3,4
4,0	2,7	2,4	3,4
4,1	4,6	15,1	7,9
4,3	3,5	4,6	4,7
4,6	2,9	3,2	3,6
4,8	3,2	3,6	3,9
4,9	10,2	6,6	7,2
5,0	3,2	2,0	3,4
5,4	2,0	4,3	3,9
5,6	4,3	6,2	5,4
6,3	4,6	4,0	5,0
6,9	6,1	6,0	6,3
7,5	8,0	7,0	7,5

Normal até 3mm

ANEXO 16: Resultados de medida de lobo esquerdo (LE) e lobo direito (LD) do figado, diâmetro de veia porta (DVP), medida do tamanho do baço (TB) e medida da espessura da parede da vesícula biliar (VB), através de ultra-sonografia, em pacientes portadores da forma clínica intestinal da esquistossomose mansoni.

RESULTADOS DE ULTRA-SOM				
LE(mm)	LD(mm)	DVP(mm)	TB(mm)	VB(mm)
53	77	11	98	0
65	110	9	96	0
70	122	11	88	0
70	145	10	86	0
70	140	10	96	0
70	101	10	89	0
75	131	11	107	0
76	126	12	97	0
77	120	10	100	0
80	136	10	101	0
83	140	12	110	0
87	108	10	93	0
88	122	14	114	0
89	140	11	115	0
89	105	10	93	0
101	140	9	101	0
105	121	8	109	0
120	152	9	87	0

Normal: LE até 70mm; LD maior que 140mm; DVP até 12mm; TB até 120mm; VB 0 até 5mm e 1 igual ou maior que 5mm

ANEXO 17: Resultados de medida de lobo esquerdo (LE) e lobo direito (LD) do fígado, diâmetro de veia porta (DVP), medida do tamanho do baço (TB) e medida da espessura da parede da vesícula biliar (VB), através de ultra-sonografia, em pacientes portadores da forma clínica hepatointestinal da esquistossomose mansoni.

RESULTADOS DE ULTRA-SOM				
LE(mm)	LD(mm)	DVP(mm)	TB(mm)	VB(mm)
49	73	10	100	1
57	140	11	90	1
68	124	11	120	0
73	113	9	86	0
76	100	9	119	0
83	110	10	128	0
89	110	10	93	0
95	132	12	77	0
99	136	8	108	0
101	147	13	120	0
110	120	13	103	0
110	172	9	85	0
115	159	14	120	0
120	136	10	87	0
120	135	14	122	1
121	145	10	93	*
122	101	9	106	0

Normal: LE até 70mm; LD maior que 140mm; DVP até 12mm; TB até 120mm; VB até 5mm

* paciente colecistectomizada

ANEXO 18: Resultados de medida de lobo esquerdo (LE) e lobo direito (LD) do figado, diâmetro de veia porta (DVP), medida do tamanho do baço (TB) e medida da espessura da parede da vesícula biliar (VB), através de ultra-sonografia, em pacientes portadores da forma clínica hepatoesplênica compensada da esquistossomose mansoni.

RESULTADOS DE ULTRA-SOM				
LE(mm)	LD(mm)	DVP(mm)	TB(mm)	VB(mm)
37	74	13	160	1
39	94	17	177	1
49	70	12	170	1
54	90	11	175	0
67	131	13	155	1
80	140	16	200	1
89	106	17	150	1
93	112	18	213	1
102	136	14	189	1
105	110	10	190	1
105	101	13	149	1
109	80	17	155	0

Normal: LE até 70mm; LD maior que 140mm; DVP até 12mm; TB até 120mm; VB até 5mm

ANEXO 19: Resultados de medida de lobo esquerdo (LE) e lobo direito (LD) do fígado, diâmetro de veia porta (DVP), medida do tamanho do baço (TB) e medida da espessura da parede da vesícula biliar (VB), através de ultra-sonografia, em pacientes portadores da forma clínica hepatoesplênica descompensada da esquistossomose mansoni.

RESULTADOS DE ULTRA-SOM				
LE(mm)	LD(mm)	DVP(mm)	TB(mm)	VB(mm)
44	99	11	175	1
44	104	11	170	1
72	74	16	*	**
74	120	12	188	1
75	135	17	257	1
76	110	12	193	1
76	110	16	190	1
79	102	11	*	1
84	87	10	*	1
87	110	13	*	0
89	108	13	195	0
89	88	14	140	1
96	120	15	162	0
101	86	13	*	1
104	72	13	170	1
110	101	19	147	1
114	111	16	160	1

Normal: LE até 70mm; LD maior que 140mm; DVP até 12mm; TB até 120mm; VB até 5mm

* paciente esplenectomizado; ** paciente colecistectomizado

ANEXO 20: Resultados de irregularidade de superfície hepática (SH), presença de colaterais (COL), presença de ascite (ASC) e aspecto do parênquima hepático (PH), através de ultra-sonografia realizada em pacientes portadores da forma clínica intestinal da esquistossomose mansoni.

RESULTADOS DE ULTRA-SOM			
SH	COL	ASC	PH
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	1
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	1
0	0	0	0

Normal: SH 0 regular, 1 leve irregularidade, 2 intensa irregularidade; COL 0 ausente, 1 duvidoso, 2 presente; ASC 0 ausente, 1 duvidoso, 2 presente; PH 0 ausência de lesões, 1 presença de lesões

ANEXO 21: Resultados de irregularidade de superfície hepática (SH), presença de colaterais (COL), presença de ascite (ASC) e aspecto do parênquima hepático (PH), através de ultra-sonografia realizada em pacientes portadores da forma clínica hepatointestinal da esquistossomose mansoni.

RESULTADOS DE ULTRA-SOM			
SH	COL	ASC	PH
0	0	0	1
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
1	0	0	1
1	0	0	1

Normal: SH 0 regular, 1 leve irregularidade, 2 intensa irregularidade; COL 0 ausente, 1 duvidoso, 2 presente; ASC 0 ausente, 1 duvidoso, 2 presente; PH 0 ausência de lesões, 1 presença de lesões

ANEXO 22: Resultados de irregularidade de superfície hepática (SH), presença de colaterais (COL), presença de ascite (ASC) e aspecto do parênquima hepático (PH), através de ultra-sonografia realizada em pacientes portadores da forma clínica hepatoesplênica compensada da esquistossomose mansoni.

RESULTADOS DE ULTRA-SOM			
SH	COL	ASC	PH
0	2	0	0
0	0	0	1
0	0	0	1
1	1	0	1
1	2	0	1
1	2	0	1
1	1	0	1
1	2	0	1
1	0	0	1
1	2	0	1
1	0	0	0
2	0	0	1

Normal: SH 0 regular, 1 leve irregularidade, 2 intensa irregularidade; COL 0 ausente, 1 duvidoso, 2 presente; ASC 0 ausente, 1 duvidoso, 2 presente; PH 0 ausência de lesões, 1 presença de lesões

ANEXO 23: Resultados de irregularidade de superfície hepática (SH), presença de colaterais (COL), presença de ascite (ASC) e aspecto do parênquima hepático (PH), através de ultra-sonografia realizada em pacientes portadores da forma clínica hepatoesplênica descompensada da esquistossomose mansoni.

RESULTADOS DE ULTRA-SOM			
SH	COL	ASC	PH
0	2	0	1
0	2	0	1
1	2	0	1
1	2	2	1
1	0	2	0
1	0	2	0
1	2	2	1
1	2	0	1
1	2	0	1
1	0	0	1
1	2	0	1
1	0	0	1
1	2	0	1
2	2	0	1
2	2	2	1
2	2	0	1
2	2	0	1

Normal: SH 0 regular, 1 leve irregularidade, 2 intensa irregularidade; COL 0 ausente, 1 duvidoso, 2 presente; ASC 0 ausente, 1 duvidoso, 2 presente; PH