

Para o Dr. José Edisio
da Silva Tavares (Chefe do Departa-
mento de Clínica Médica).

Jucyphany

LÚCIA LIBANÉZ BESSA CAMPELO BRAGA

PEPTÍDEOS SÉRICOS DO PROCOLÁGENO TIPO III
EM PACIENTES COM ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA FORMAS
HEPATOINTESTINAL E HEPATOE SPLÊNICA COMPENSADA
E INDIVÍDUOS SADIOS.

616.963
B794P
1987

Tese de Mestrado apresentada
ao Curso de Pós-Graduação em
Gastroenterologia Clínica da
Escola Paulista de Medicina.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Moysés Mincis

SÃO PAULO

1987

TESE ELABORADA NO DEPARTAMENTO DE MEDICINA DA ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA EM CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO, ÁREA DE GASTROENTEROLOGIA CLÍNICA (CREDENCIADO PELO CFE - PARECER Nº 3773/76 e RECRENCIADO - PARECER Nº 894/81 - PARECER DE 06 DE JULHO DE 1982) E APRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM MEDICINA.

ESTE TRABALHO FOI PARCIALMENTE FINANCIADO PELA CAPES (CONVÊNIO PICD-UFC) E PELA DISCIPLINA DE GASTROENTEROLOGIA CLÍNICA DA ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA (PROF. TITULAR: DR. MOACYR PADUA VILELA E PROF. DR. RUBENS XAVIER GUIMARÃES - COORDENADOR DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO).

A memória do meu pai,
fonte inesgotável de força e entusiasmo.

A minha mãe,
cujo amor e apoio nos momentos difíceis,
tornaram menos árdua a caminhada.

Aos meus filhos ANDRÉA e BONFIM NETO
motivos de constante estímulo e felicidade.

Ao meu marido BOMFIM,
que torna o convívio diário expressão
de amor, companheirismo, amizade e compreensão.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. *Moysés Mincis*, Professor Adjunto e Livre-Docente da Disciplina de Gastroenterologia Clínica da Escola Paulista de Medicina, pela inestimável orientação, pelas horas dedicadas a realização desta tese e sobretudo pelo apoio, entusiasmo, estímulo e amizade demonstrados em todos os momentos.

Ao Prof. Dr. *Moacyr Padua Vilela*, Chefe da Disciplina de Gastroenterologia Clínica da Escola Paulista de Medicina pela boa acolhida em seu Serviço.

Ao Prof. Dr. *Rubens Xavier Guimarães*, Coordenador do Curso de Pós-Graduação da Disciplina de Gastroenterologia Clínica da Escola Paulista de Medicina pelo constante apoio e estímulo.

Aos *Professores* da Disciplina de Gastroenterologia Clínica pelos conhecimentos que nos transmitiram.

Ao Prof. Dr. *Ewaldo Mario Kuhlmann Russo*, Professor Adjunto da Disciplina de Endocrinologia da Escola Paulista de Medicina pelo precioso auxílio e a forma gentil com que orientou a realização do radioimunoensaio.

Ao Prof. Dr. *Neil Ferreira Novo* e *Drª Yara Juliano*, da Disciplina de Estatística, do Departamento de Medicina Preventiva da Escola Paulista de Medicina, pela valiosa contribuição no estudo estatístico e a forma acolhedora e amiga que sempre nos trataram.

Ao Prof. Dr. *José Kerbauy* chefe da Disciplina de Hematologia do Departamento de Medicina da Escola Paulista de Medicina, onde foram feitas as dosagens da atividade protrombínica e a Sra. *Maria Conceição de Sousa Mateus* por tê-las realizado.

À todos os *Professores* da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará que, de forma decisiva contribuíram para a minha formação profissional.

À biomédica *Mara Pinterich de Castilho*, pela ativa participação na dosagem do radioimunoensaio.

Aos funcionários da Disciplina de Gastroenterologia Clínica da Escola Paulista de Medicina em especial às Sras. *Iraci Rocha Fihlie*, *Fátima Alexandrina de Santana Regis*, *Mathilde dos Santos Borges da Silva*.

À Srta. *Lenita Paula Fortkamp* pela disponibilidade na coleta de sangue.

À todos os *colegas* da Disciplina de Gastroenterologia Clínica que, direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho.

Ao *Plano Institucional de Capacitação de Docentes (PICD)*, da Universidade Federal do Ceará, pela bolsa de estudos concedida pela CAPES, durante a realização do Curso de Pós-Graduação.

À bibliotecária *Regina Cernuschi Agucha*, pela orientação nas referências bibliográficas.

À *Rosa Alves Paranhos* pela disponibilidade, dedicação e esmero na composição datilográfica.

"que a semente não permaneça semente..."

I N D I C E

	Pag.
1 - INTRODUÇÃO	8
2 - OBJETIVOS	12
3 - CASUÍSTICA	13
4 - MÉTODO	18
5 - RESULTADOS	22
6 - DISCUSSÃO	37
7 - CONCLUSÕES	73
8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74

1. INTRODUÇÃO

A esquistossomose mansônica continua sendo um dos maiores problemas médico-sociais do Brasil, pois compromete cerca de dez milhões de indivíduos (MACHADO, 1979), abrangendo vários estados da união e ocasionando por vezes repercussões graves sobre o organismo.

A esquistossomose é uma doença que pode se exteriorizar sob as seguintes formas clínicas: 1) aguda, inicial ou toxêmica; 2) intestinal; 3) hepatointestinal (HI); 4) hepatoesplênica (HE); 5) cardiopulmonar; 6) tumoral ou pseudo-neoplásica; 7) ectópicas (COUTINHO & DOMINGUES, 1985). O setor comumente mais atingido é o fígado, que recebe agressão continuada durante anos pela carga constante de ovos depositada nos tecidos. O fígado se acha comprometido em todas as fases da doença e mais acentuadamente nas formas graves. Na forma HI pode-se encontrar no fígado granulomas periovulares esparsos, infiltrado portal linfoplasmocitário de grau variável, fibrose septal moderada, formação de septos e presença de pigmento esquistossomótico. Na forma HE plenamente desenvolvida o quadro anatomopatológico característico é a fibrose de Symmers, que corresponde a um espessamento fibroso dos espaços portais com obstrução dos ramos intrahepáticos da veia porta. Observa-se também no fígado a fibrose septal, representada por finos septos fibrosos longos e ramificados, que partem do espaço porta para todo o parênquima o qual conserva a sua estrutura normal. A fibrose septal parece ter alguma

correlação com a gravidade da doença e o grau de hipertensão pós sinusoidal (COTRIM & LYRA, 1986).

Há atualmente grande interesse no estudo da fibrose hepática principalmente pelo fato de alguns autores terem observado bons resultados no tratamento dessa lesão, sendo evidenciado melhora clínica e laboratorial em pacientes com cirrose hepática com o uso de drogas antifibrinogênicas (KERSHENOBICH e col., 1979; KERSHENOBICH e col., 1984).

A quantificação da fibrose hepática pode ser realizada adequadamente em tecido obtido através de biópsia (JIMENEZ e col., 1985). Entretanto do ponto de vista prático a biópsia hepática só é feita em número reduzido de casos. Nos últimos anos vem sendo desenvolvidas pesquisas com o objetivo de identificar no soro marcadores para o estudo da fibrose hepática. Entre esses, vem merecendo importância especial a dosagem da fração amino-terminal do procolágeno tipo III no soro, ou seja, os peptídeos séricos do procolágeno tipo III (PSPCIII). Desde 1978 a dosagem no soro desses peptídeos têm sido utilizada na tentativa de estudar a fibrogênese hepática (ROHDE e col., 1978).

Segundo a maioria dos autores, a determinação sérica desses peptídeos seria útil para o estudo da fibrogênese (WEIGAND e col., 1984; ROJKIND, 1986) e possivelmente para avaliar a ação de drogas antifibrinogênicas (TORRES-SALINAS e col., 1986). Considera-se importante a determinação dos PSPCIII na monitorização de pacientes com vários tipos de hepatopatias (ANNONI e col., 1982; WEIGAND e col., 1984 & ANNONI e col., 1986).

As concentrações dos PSPCIII estão elevadas em várias doenças hepáticas (ROHDE e col., 1979; RAEDSCH e col., 1982; SAVOLAINEN e col., 1983; COLOMBO e col., 1983; FREI e col., 1984; NIEMELA e col., 1983; SAVOLAINEN e col., 1984; WEIGAND e col., 1984; COLOMBO e col., 1985; TORRES-SALINAS e col., 1986; ERICKSON & ZETTERVAL, 1986).

Em nossa pesquisa bibliográfica encontramos apenas um trabalho em que os PSPCIII foram estudados na esquistossomose mansônica e em número muito pequeno de pacientes, todos em "fase inicial" da doença (BOLARIN e col., 1984). Por essa razão, nos propusemos a estudar as concentrações dos PSPCIII em esquistossomóticos, nas formas clínicas HI e HE.

Alguns autores tiveram interesse em saber se há correlação entre os aumentos dos PSPCIII e atividades de várias enzimas, entre as quais a aminotransferase da alanina (ALT), aminotransferase do aspartato (AST), fosfatase alcalina (FA) e gamaglutamiltranspeptidase (GGTP), ou seja, se a dosagem dos mencionados peptídeos poderia fornecer informação adicional quanto à avaliação da função hepática. Estudos nesse sentido foram realizados em vários tipos de hepatopatias (ROHDE e col., 1979; ANNONI e col., 1982; NIEMELA e col., 1983; FREI e col., 1984; COLOMBO e col., 1985) mas não em esquistossomóticos sendo, portanto, de interesse estudarmos também esse aspecto em nossa pesquisa.

O tratamento atual específico da esquistossomose proporciona bons resultados. Com este, há significativa regressão das acentuadas alterações obtidas experimental

mente, inclusive dos fenômenos vasculares obstrutivos e eventualmente da fibrose (ANDRADE & BRITO, 1981; COUTINHO & DOMINGUES, 1985). Com relação a este processo ANDRADE e GRIMAUD (1986) observaram em estudos realizados em camundongos, que após a cura da mencionada parasitose com hican-tone e oxamniquine houve reabsorção rápida, embora incompleta da fibrose.

Com o emprego da oxamniquine (um dos medicamentos utilizados no tratamento dessa parasitose) pode-se obter a cura em 70 a 100% dos casos (GUIMARÃES e col., 1979; KATZ e col., 1983; COUTINHO & DOMINGUES, 1985) estando indicado nas formas HI e HE (KILPATRICK e col., 1981; BINA & PRATA, 1983; SLEIGH e col., 1986), entre outras. Após 4 ou mais meses do tratamento há melhora acentuada dos sintomas subjetivos e também redução da hepatomegalia e da esplenomegalia em torno de 60% dos pacientes (COUTINHO & DOMINGUES, 1985).

Baseados nesses conhecimentos, acreditamos ser útil verificar se há diminuição dos PSPCIII em pacientes com esquistossomose mansônica após o tratamento com oxamniquine.

Este estudo poderia eventualmente contribuir para a orientação terapêutica da fibrose em pacientes com esquistossomose, especialmente aqueles que não responderam ao tratamento quimioterápico da mencionada parasitose e talvez aqueles em que embora esta tenha sido "curada" haja elementos sugestivos de persistência da atividade fibrogênica da hepatopatia esquistossomótica.

2. OBJETIVOS

1. Determinar os níveis dos PSPCIII em pacientes com esquistossomose mansônica, formas HI e HE compensada.

2. Verificar se há correlação entre os níveis dos PSPCIII e as atividades enzimáticas séricas da aminotransferase da alanina, aminotransferase do aspartato, fosfatase alcalina e gamaglutamiltranspeptidase em esquistossomóticos, formas HI e HE compensada.

3. Comparar, em esquistossomóticos, os valores dos PSPCIII antes e após o tratamento com oxamniquine.

3. CASUÍSTICA

Foram estudados 35 indivíduos, dos quais 10 voluntários sadios, como grupo controle (C) e 25 pacientes com esquistossomose mansônica.

O grupo controle foi constituído de 5 indivíduos do sexo feminino e 5 do sexo masculino, com idades entre 20 a 35 anos e mediana de 31 anos (tabela 1). Foram considerados sadios os que apresentassem dados epidemiológicos e resultados de protoparasitológicos negativos para esquistossomose mansônica, e ao exame clínico e em vários exames laboratoriais, não houvesse achados anormais.

Os esquistossomóticos foram estudados no Ambulatório da Disciplina de Gastroenterologia Clínica da Escola Paulista de Medicina, no período de agosto de 1985 a julho de 1986.

A hipótese diagnóstica de esquistossomose mansônica fundamentou-se em dados epidemiológicos e clínicos, tendo sido confirmada pela presença de ovos de *Schistosoma Mansoni* nas fezes e/ou biópsia retal. Não foram incluídos no estudo pacientes com outras condições patológicas associadas ou com antecedentes de ingestão de álcool, em doses superiores a 10 g de etanol/dia; os que estivessem em uso de alguma medicação inclusive anticoncepcional e sobretudo, aqueles tratados para esquistossomose mansônica. Foram ainda excluídos pacientes com sinais de desnutrição, que apresentassem história prévia de sangramentos, internações anteriores por descompensação hepática ou apresentas-

sem ao exame físico ascite, edema de membros inferiores, aranhas vasculares, eritema palmar, ginecomastia e icterícia.

Os pacientes foram classificados em dois grupos: formas HI e HE segundo COUTINHO & DOMINGUES (1981).

O grupo de esquistossomóticos forma HI foi constituído de 16 pacientes, sendo 8 do sexo feminino e 8 do masculino. A faixa etária dos pacientes variou de 20 a 45 anos com mediana de 25 anos (Tabela 2). Ao exame físico apresentavam aumento do fígado, com predomínio do lobo esquerdo, medindo cerca de 2 a 4 cm abaixo do rebordo costal direito (RCD) na linha hemiclavicular direita e 3 a 6 cm abaixo do apêndice xifóide, com consistência aumentada, bordos finos e superfície lisa. Baço não palpável e nem percutível.

O grupo de esquistossomóticos na forma hepatoesplênica compensada constou de 9 pacientes, 7 do sexo masculino e 2 do feminino, sendo o mais jovem com 22 anos, o mais idoso com 44 e mediana de 27 anos (Tabela 3). Todos apresentavam fígado palpável medindo entre 2 a 8 cm abaixo do RCD na linha hemiclavicular direita e 3 a 10 cm abaixo do apêndice xifóide, com consistência endurecida, bordos finos e superfície lisa. Baço palpável entre 2 a 15 cm abaixo da linha hemiclavicular esquerda e de consistência firme.

TABELA 1 - IDENTIFICAÇÃO DE INDIVÍDUOS SADIOS E VALORES DE ALBUMINA, GAMAGLOBULINA
 ATIVIDADE PROTROMBÍNICA, BILIRRUBINAS TOTAIS

PARÂMETRO CASO Nº	INICIAIS	SEXO	IDADE ANOS	PROCEDÊN- CIA	ALBUMINA g/dl	GAMAGLO- BULINA	ATIVIDA- DE PRO- TROMBÍNICA	BILIRRU- BINAS TO- TAIS
1	T.M.J.	F	28	CE	4,29	1,19	100%	1,1
2	A.E.S.	F	20	CE	3,96	1,19	100%	0,9
3	S.M.	F	30	SP	4,36	0,79	100%	1,0
4	L.B.B.	M	29	SP	3,92	1,54	100%	0,9
5	M.B.S.	M	32	SP	4,74	1,51	90%	1,5
6	J.B.	M	34	SP	4,10	1,00	90%	1,0
7	D.F.S.	F	32	PE	4,84	1,72	90%	1,2
8	M.X.	F	25	BA	4,39	1,22	100%	1,0
9	M.B.B.	M	35	BA	4,61	1,00	100%	1,3
10	J.C.X.	M	33	CE	4,47	1,14	90%	1,0

TABELA 2 - IDENTIFICAÇÃO DE PACIENTES COM ESQUISTOSSOMOSE FORMA HEPATOINTESTINAL E VALORES DE ALBUMINA, GAMAGLOBULINA, ATIVIDADE PROTROMBÍNICA E BILIRRUBINA NAS TOTAIS

PARÂMETRO CASO Nº	INICIAIS	SEXO	IDADE ANOS	PROCEDÊN- CIA	ALBUMINA g/dl	GAMAGLO- BULINA	ATIVIDA- DE PRO- TROMBÍNICA	BILIRRU- BINAS TO- TAIS
1	I.M.M.	F	23	PE	3,94	0,95	100%	0,7
2	M.M.F.	F	20	PE	3,97	1,65	90%	0,6
3	V.R.S.	M	39	BA	4,68	1,71	100%	1,2
4	S.E.S.	M	38	PB	4,57	1,42	100%	1,1
5	J.D.A.	M	41	BA	4,72	2,0	100%	1,3
6	R.S.	F	45	BA	4,16	1,68	90%	0,6
7	N.P.S.	F	22	PE	4,50	1,27	90%	0,7
8	J.C.	F	26	PE	4,29	0,40	80%	0,6
9	A.M.N.	F	40	BA	4,76	1,25	100%	0,7
10	A.S.R.	M	28	MG	4,37	2,19	100%	0,7
11	G.P.S.	M	24	BA	4,81	1,04	100%	0,7
12	A.L.E.S.	F	23	BA	3,89	1,44	100%	0,9
13	E.C.	F	20	MG	4,16	1,39	100%	0,7
14	J.E.C.	M	23	BA	4,21	1,24	90%	0,7
15	A.L.S.A.	M	24	BA	4,80	1,36	100%	0,9
16	J.V.S.	M	25	BA	4,60	1,39	90%	1,0

TABELA 3 - IDENTIFICAÇÃO DE PACIENTES COM ESQUISTOSSOMOSE FORMA HEPATOE SPLÊNICA E VALORES DE ALBUMINA, GAMAGLOBULINA, ATIVIDADE PROTROMBÍNICA E BILIRRUBINAS TOTAIS

PARÂMETRO Caso Nº	INICIAIS	SEXO	IDADE ANOS	PROCEDÊN CIA	ALBUMINA g/dl	GAMAGLO - BULINA	ATIVIDA- DE PRO- TROMBÍNICA	BILIRRU- BINAS TO TAIS
17	S.S.G.	M	22	BA	5,10	1,46	90%	1,2
18	M.D.S.	F	27	MG	4,8	1,50	70%	1,0
19	A.F.C.	M	27	BA	4,37	1,78	80%	0,7
20	O.F.R.	M	37	PE	3,86	1,66	70%	2,0
21	J.B.S.	M	31	BA	4,67	1,72	100%	0,5
22	J.M.S.	M	44	BA	3,24	2,83	60%	0,7
23	J.A.	M	27	BA	2,45	2,79	90%	1,1
24	J.C.S.	M	27	MG	4,10	1,67	80%	1,1
25	N.L.O.	F	26	MG	3,94	2,04	70%	1,1

4. MÉTODOS

Dos 25 esquistossomóticos examinados inicialmente, 19 foram reexaminados aproximadamente 6 meses após o tratamento com oxamniquine, sendo 16 com a forma HI e 3 com a forma HE. Os pacientes realizaram protoparasitológicos mensalmente durante seis meses e, biópsia retal se, após esse período, os exames tivessem sido negativos.

Os pacientes foram submetidos aos seguintes exames:

4.1. Protoparasitológico de fezes e/ou biópsia retal. Os protoparasitológicos de fezes foram realizados segundo método de HOFFMAN, PANS e JANER (1934) em amostras de fezes de três dias consecutivos.

4.2. Esofagogastroduodenoscopia (pacientes com esquistossomose forma HE).

4.3. Hemograma com contagem de plaquetas.

4.4. Aminotransferase da alanina (ALT) ou transaminase glutâmico oxalacético (TGO). Valores normais: homem até 22 U/l, mulher até 17 U/l

Aminotransferase do aspartato (ALT) ou transaminase glutâmico pirúvica (TGP). Valores normais: homem até 18 U/l, mulher até 15 U/l

4.5. Fosfatase Alcalina (FA) método colorimétrico. Valores normais: 60 a 170 U/l.

4.6. Gamaglutamiltranspeptidase (GGTP) método cinético. Valores normais: homem 6 a 28 U/l, mulher 4 a 18 U/l.

4.7. Tempo de protrombina pelo método de um estágio de QUICK (QUICK, 1935) usando tromboplastina de cérebro humano.

4.8. Bilirrubina pelo método Mallory Evelyn. Valores normais: Bilirrubina Direta até 0,4 mg/dl, bilirrubina indireta: 0,1 - 0,6 mg/dl e total: 0,2 - 1,0 mg/dl.

4.9. Uréia (U) método cinético. Valores normais: 12 - 47 mg/dl.

4.10. Creatinina (C) método Jaffé modificado. Valores normais : 0,2 - 1,0 mg/dl.

4.11. Eletroforese de proteínas séricas em fita de acetato de celulose. Valores normais: Albumina 3,2 - 5,6 g/dl, Alfa 1 0,1 - 0,4 g/dl, Alfa 2 0,4 - 1,1 g/dl, Beta 0,5 - 1,2 g/dl, Gama 0,5 - 1,6 g/dl, Proteína total 6 - 8,5 g/dl.

4.12. Antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg) por radioimunoensaio empregando-se Kits do Laboratório Abbott.

4.13. Peptídeos séricos procolágeno tipo III (PSPCIII).

O soro para a dosagem dos peptídeos foi acondicionado em alíquotas sendo adicionado azida sódica (0,02%) e estocado a -25°C , por períodos que variavam entre 6 a 12 meses. Com esse procedimento os peptídeos não se alteram (ROHDE e col., 1979).

Para a dosagem dos PSPCIII utilizamos "Kits" de radioimunoensaio gentilmente fornecidos pela Behringwerke

(Hoechst) Marbug, Alemanha Ocidental.

Nesse trabalho, a fração aminoterminal do procolágeno tipo III foi determinada segundo método de radioimunoensaio descrito por ROHDE e col., (1979), usando como antígeno marcado com I^{125} o peptídeo procolágeno tipo III isolado da pele do feto do boi, como primeiro anticorpo um antisoro produzido em coelhos imunizados com o peptídeo procolágeno tipo III bovino e como método de separação dos imunocomplexos formados entre o anticorpo (imunoglobulina do coelho) e antígeno marcado, um segundo anticorpo produzido na cabra.

Segundo instruções para uso do kit (INSTRUCTION BOOKELET, 1981) as amostras do soro foram medidas em duplicatas com três diluições (1:5, 1:20, 1:50). O cálculo da concentração das amostras é feito a partir da fórmula: concentração do procolágeno tipo III = $\frac{A \times 200\mu l}{B}$, onde A é a concentração de procolágeno que liga 50% do peptídeo marcado, determinado a partir da curva padrão e B o volume de procolágeno III de cada amostra, determinado a partir das 3 diluições que ligam também 50% do peptídeo marcado. Os 200 μ l representam o volume em microlitro utilizado nas amostras diluídas. Valores normais: 4 - 12 ng/ml (mediana 7 ng/ml).

4.14. Método estatístico

Para a análise dos resultados, utilizamos testes não paramétricos, levando em conta a natureza das variáveis estudadas.

Foram aplicados os seguintes testes:

1. Análise de variância por postos de Kruskal-Wallis (SIEGEL, 1975) para comparar os grupos HI, HE e indivíduos sadios, com relação as variáveis estudadas. Quando esta análise mostrou diferença significativa, foi complementada pelo teste de DUNN (HOLLANDER & WOLFE, 1973) e neste caso calculou-se a média da soma dos postos (\bar{R}) e a diferença mínima significativa (DMS).

2. Coeficiente de correlação de Spearman (SIEGEL, 1975) para estudar possíveis relações entre os valores dos PSPCIII e valores de AST, ALT, FA, GGTP.

3. Teste de Wilcoxon para duas amostras não independentes (SIEGEL, 1975), com o objetivo de comparar os valores das variáveis estudadas nas fases antes e após tratamento. Este teste foi aplicado para grupo de esquistosomóticos como um todo.

Em todos os testes fixamos em 0,05 ou 5% ($\alpha = 0,05$) o nível para rejeição da hipótese de nulidade e assinalamos com um asterisco os valores significantes.

5. RESULTADOS

Os resultados serão apresentados em tabelas numeradas de 4 a 17. As de números 4 a 9 se referem aos valores dos PSPCIII e das atividades séricas das enzimas AST, ALT, FA, GGTP em indivíduos do grupo controle e esquistosomóticos das formas HI e HE.

Os resultados quanto ao estudo da correlação entre os níveis dos PSPCIII e as atividades séricas das enzimas mencionadas, são apresentados nas tabelas numeradas de 10 a 16.

A tabela de número 17 mostra os resultados do estudo comparativo entre os valores dos PSPCIII antes e após o tratamento com oxamniquine.

TABELA 4 - INDIVÍDUOS DOS GRUPO CONTROLE (C) E PACIENTES ESQUISTOSSOMÓTICOS FORMAS HEPATOINTESTINAL (HI) E HEPATOESPLÊNICA (HE), SEGUNDO OS VALORES DOS PEPTÍDEOS SÉRICOS DO PROCOLÁGENO TIPO III

	PSPCIII (ng/ml)		
	C	HI	HE
	8,5	19,0	18,9
	7,5	13,5	17,4
	10,0	11,0	16,1
	11,0	15,4	15,0
	7,5	11,5	12,0
	10,0	10,0	14,5
	9,5	9,0	33,5
	9,2	12,5	10,0
	7,5	13,3	15,5
	9,2	10,5	
		13,8	
		12,8	
		12,7	
		15,5	
		10,7	
		14,3	
MÉDIA (\bar{x})	9,0	13,0	17,0
MÉDIA DA SOMA DOS POSTOS (\bar{r})	7,0	20,0	27,0

ANÁLISE DE VARIÂNCIA POR POSTOS DE KRUSKAL-WALLIS (CXHIXHE)

$$H \text{ calc} = 19,5^* \quad H \text{ crit} = X^2 (2gl, 0,05) = 5,99$$

TESTE DE DUNN

DIFERENÇAS OBSERVADAS	dms
$ \bar{r}_C - \bar{r}_{HI} = 13,0^*$	9,89
$ \bar{r}_C - \bar{r}_{HE} = 20,0^*$	11,27
$ \bar{r}_{CI} - \bar{r}_{HE} = 7,0$	10,22

TABELA 5 - INDIVÍDUOS DO GRUPO CONTROLE (C) E PACIENTES ESQUISTOSSOMÓTICOS FORMAS HEPATOINTESTINAL (HI) E HEPATOE SPLÊNICA (HE), SEGUNDO OS VALORES DA AMINOTRANSFERASE DO ASPARTATO (AST)

	AST (U/l)		
	C	HI	HE
	9,5	13,0	10,5
	15,0	10,0	11,0
	10,0	10,0	29,0
	12,0	9,5	39,0
	16,0	10,5	26,5
	12,0	10,0	11,0
	16,0	12,0	84,0
	5,0	7,0	22,0
	9,0	9,5	70,0
	14,5	14,0	
		9,0	
		13,0	
		8,0	
		22,0	
		14,0	
		12,0	
MÉDIA (\bar{X})	12,0	11,5	34,0
MÉDIA DA SOMA DOS PONTOS (R)	16,6	14,0	26,5

ANÁLISE DE VARIÂNCIA POR POSTOS DE KRUSKAL-WALLIS (CXHIXHE)

$$H_{\text{calc}} = 8,86^* \quad H_{\text{crit}} = X^2 (2gl, 0,05) = 5,99$$

TESTE DE DUNN

DIFERENÇAS OBSERVADAS	dms
$ \bar{RC} - \bar{RHI} = 2,6$	9,89
$ \bar{RC} - \bar{RHE} = 10,0^*$	11,27
$ \bar{RHI} - \bar{RHE} = 12,5^*$	10,2

TABELA 6 - INDIVÍDUOS DO GRUPO CONTROLE (C) E PACIENTES ESQUISTOSSOMÓTICOS FORMAS HEPATOINTESTINAL (HI) E HEPATOESPLÊNICA (HE) SEGUNDO OS VALORES DE AMINOTRANSFERASE DA ALANINA (ALT)

	ALT (U/l)		
	C	HI	HE
	9,0	19,0	19,5
	15,5	17,0	19,0
	15,0	19,0	25,0
	10,0	13,0	19,0
	10,5	19,0	20,0
	14,0	10,0	23,0
	17,0	15,0	40,0
	20,0	9,0	22,0
	11,5	13,0	21,0
	19,0	24,0	
		13,0	
		19,0	
		15,0	
		34,0	
		17,0	
		43,0	
MÉDIA (\bar{X})	14,0	19,0	23,0
MÉDIA DA SOMA DOS POSTOS (R)	11,5	17,0	27,5

ANÁLISE DE VARIÂNCIA POR POSTOS DE KRUSKAL-WALLIS (CXHIXHE)

$N \text{ calc} = 6,82^*$ $H \text{ crit} = \chi^2 (2gl, 0,05) = 5,00$

TESTE DE DUNN

DIFERENÇAS OBSERVADAS	dms
$ \bar{RC} - \bar{RHI} = 5,0$	9,89
$ \bar{RC} - \bar{RHE} = 16,0^*$	11,29
$ \bar{RHI} - \bar{RHE} = 10,5^*$	10,22

TABELA 7 - INDIVÍDUOS DO GRUPO CONTROLE (C) E PACIENTES ESQUISTOSSOMÓTICOS FORMAS HEPATOINTESTINAL (HI) E HEPATOESPLÊNICA (HE), SEGUNDO OS VALORES DE FOSFATASE ALCALINA (FA)

	FA (U/l)		
	C	HI	HE
	89,0	92,0	106,0
	53,0	142,0	62,0
	82,0	69,0	120,0
	40,0	142,0	83,0
	64,0	89,0	152,0
	69,0	99,0	65,0
	41,5	106,0	297,0
	48,0	60,0	178,0
	82,5	89,0	110,0
	39,0	122,0	
		108,0	
		138,0	
		181,0	
		148,0	
		89,0	
		88,0	
MÉDIA (\bar{X})	61,0	110,0	130,0
MÉDIA DA SOMA DOS POSTOS (R)	7,6	22,0	22,6

ANÁLISE DE VARIÂNCIA POR POSTOS DE KRUSKAL-WALLIS (CXHIXHE)

$$H_{calc} = 14,47^* \quad H_{crit} = \chi^2 (2gl, 0,06) = 5,99$$

TESTE DE DUNN

DIFERENÇAS OBSERVADAS	dms
$ \bar{RC} - \bar{RHI} = 14,3^*$	9,89
$ \bar{RC} - \bar{RHE} = 15,0^*$	11,27
$ \bar{RHI} - \bar{RHE} = 0,7$	10,22

TABELA 8 - INDIVÍDUOS DO GRUPO CONTROLE (C) E PACIENTES ESQUISTOSSOMÓTICOS FORMAS HEPATOINTESTINAL (HI) E HEPATOE SPLÊNICA (HE) SEGUNDO OS VALORES DE GAMAGLUTAMILTRANSPEPTIDASE (GGTP)

	GGTP (U/l)		
	C	HI	HE
	10,0	13,0	14,0
	9,0	16,0	40,0
	9,7	13,0	16,0
	11,0	10,0	18,7
	10,0	16,0	24,0
	9,0	8,0	20,7
	13,0	15,0	50,0
	15,0	6,0	19,0
	6,0	13,3	20,0
	8,0	12,0	
		10,4	
		14,0	
		13,0	
		10,0	
		13,0	
		13,0	
MÉDIA (\bar{x})	10,0	12,0	25,0
MÉDIA DA SOMA DOS POSTOS (\bar{r})	10,0	16,0	30,5

ANÁLISE DE VARIÂNCIA POR POSTOS DE KRUSKAL-WALLIS (CXHIXHE)

$H_{calc} = 20,37^*$ $H_{crit} = \chi^2 (2gl, 0,05) = 5,99$

TESTE DE DUNN

DIFERENÇAS OBSERVADAS	dms
$ \bar{r}_C - \bar{r}_{HI} = 6,6$	9,89
$ \bar{r}_C - \bar{r}_{HE} = 21,0^*$	11,27
$ \bar{r}_{HI} - \bar{r}_{HE} = 14,0^*$	10,22

TABELA 9 - PACIENTES ESQUISTOSSOMÓTICOS FORMA HEPATOIN-
TESTINAL, SEGUNDO VALORES DOS PEPTÍDEO SÉRI-
CO PROCOLÁGENO TIPO III (PSPCIII) E AMINO-
TRANSFERASE DO ASPARTATO (AST)

	PSPCIII (ng/ml)	AST (U/l)
	19,0	13,0
	13,5	10,0
	11,0	10,0
	15,4	9,5
	11,5	10,5
	10,0	10,0
	9,0	12,0
	12,5	7,0
	13,3	9,5
	10,5	14,0
	13,8	9,0
	12,8	13,0
	12,7	8,0
	15,5	22,0
	10,7	14,0
	14,3	12,0
MÉDIA (\bar{X})	13,0	11,5
MEDIANA (MI)	13,0	10,0

CORRELAÇÃO DE SPEARMANN

$$R_s = 0,0236$$

$$R_s^2 = 0,0005$$

TABELA 10 - PACIENTES ESQUISTOSSOMÓTICOS FORMA HEPATOES-
PLÊNICA, SEGUNDO VALORES DOS PEPTÍDEOS SÉRI-
COS DO PROCOLÁGENO TIPO III (PSPCIII) E AMI-
NOTRANSFERASE DO ASPARTATO (AST).

	PSPCIII (ng/ml)	AST (U/l)
	18,9	10,5
	17,4	11,0
	16,1	29,0
	15,0	39,0
	12,0	26,5
	14,5	11,0
	33,5	84,0
	10,0	22,0
	15,5	70,0
MÉDIA (\bar{x})	17,0	34,0
MEDIANA (MI)	15,5	26,5

CORRELAÇÃO DE SPEARMANN

$$R_s = 0,1171$$

$$R_s^2 = 0,0137$$

TABELA 11- PACIENTES ESQUISTOSSOMÓTICOS FORMA HEPATOIN-
TESTINAL (HI) SEGUNDO VALORES DOS PEPTÍDEOS
SÉRICOS DO PROCOLÁGENO DO TIPO III (PSPCIII)
E AMINOTRANSFERASE DA ALANINA (ALT)

PSPCIII (ng/ml)	ALT (U/l)
19,0	19,0
13,5	17,0
11,0	19,0
15,4	13,0
11,5	19,0
10,0	10,0
9,0	15,0
12,5	9,0
13,3	13,0
10,5	24,0
13,8	13,0
12,8	19,0
12,7	15,0
15,5	34,0
10,7	17,0
14,3	43,0
MÉDIA (\bar{x}) 13,0	19,0
MEDIANA (MI) 13,0	17,0

CORRELAÇÃO DE SPEARMANN

$$R_s = 0,222$$

$$R_s^2 = 0,048$$

TABELA 12 - PACIENTES ESQUISTOSSOMÓTICOS FORMA HEPATO-
ESPLÊNICA, SEGUNDO VALORES DOS PEPTÍDEOS
SÉRICOS DO PROCOLÁGENO TIPO III (PSPCIII)
E AMINOTRANSFERASE DA ALANINA (ALT)

PSPCIII (ng/ml)	ALT (U/l)
18,9	19,5
17,4	19,0
16,1	25,0
15,0	19,0
12,0	20,0
14,5	23,0
33,5	40,0
10,0	22,0
15,5	21,0
MÉDIA (\bar{X})	17
MEDIANA (MI)	15,5

CORRELAÇÃO DE SPEARMANN

$$R_s = 0,0753$$

$$R_s^2 = 0,0056$$

TABELA 13 - PACIENTES ESQUISTOSSOMÓTICOS FORMA HEPATO-
 INTESTINAL (HI), SEGUNDO VALORES DOS PEP-
 TÍDEOS SÉRICOS DO PROCOLÁGENO TIPO III
 (PSPCIII) E FOSFATASE ALCALINA (FA).

PSPCIII (ng/ml)	FA (U/l)	
19,0	92,0	
13,5	142,0	
11,0	69,0	
15,4	142,0	
11,5	89,0	
10,0	99,0	
9,0	106,0	
12,5	60,0	
13,3	89,0	
10,5	122,0	
13,8	108,0	
12,8	138,0	
12,7	181,0	
15,5	148,0	
10,7	89,0	
14,3	88,0	
MÉDIA (\bar{x})	13,0	110,0
MEDIANA (MI)	13,0	102,0

CORRELAÇÃO DE SPEARMANN

$$R_s = 0,2905$$

$$R_s^2 = 0,0844$$

TABELA 14 - PACIENTES ESQUISTOSSOMÓTICOS FORMA HEPATOES-
PLÊNICA, SEGUNDO VALORES DOS PEPTÍDEOS SÉRI-
COS DO PROCOLÁGENO TIPO III (PSPCIII) E FOS-
FATASE ALCALINA (FA).

	PSPCIII (ng/ml)	FA (U/l)
	18,9	106,0
	17,4	62,0
	16,1	120,0
	15,0	83,0
	12,0	152,0
	14,5	65,0
	33,5	297,0
	10,0	178,0
	15,5	110,0
MÉDIA (\bar{x})	17,0	130,0
MEDIANA (MI)	15,5	110,0

CORRELAÇÃO DE SPEARMANN

$$RS = 0,0666$$

$$Rs^2 = 0,0044$$

TABELA 15 - PACIENTES ESQUISTOSSOMÓTICOS FORMA HEPATOIN-
TESTINAL, SEGUNDO VALORES DOS PEPTÍDEOS SÉ-
RICOS PROCOLÁGENO TIPO III (PSPCIII) E GAMA-
GLUTAMILTRANSPEPTIDASE (GGTP).

	PSPCIII (ng/ml)	GGTP (U/l)
	19,0	13,0
	13,5	16,0
	11,0	13,0
	15,4	10,0
	11,5	16,0
	10,0	8,0
	9,0	15,0
	12,5	6,0
	13,3	13,3
	10,5	12,0
	13,8	10,4
	12,8	14,0
	12,7	13,0
	15,5	10,0
	10,7	13,0
	14,3	13,0
MÉDIA (\bar{X})	13,0	12,0
MEDIANA (MI)	13,0	13,0

CORRELAÇÃO DE SPEARMANN

$$R_s = 0,1483$$

$$R_s^2 = 0,0220$$

TABELA 16 - PACIENTES ESQUISTOSSOMÓTICOS FORMA HEPATO-
ESPLÊNICA, SEGUNDO OS VALORES DOS PEPTÍDEOS
SÉRICOS PROCOLÁGENO TIPO III (PSPCIII) E
DA GAMAGLUTAMILTRANSPEPTIDASE (GGTP)

	PSPCIII (ng/ml)	GGTP (U/l)
	18,9	14,0
	17,4	40,0
	16,1	16,0
	15,0	18,7
	12,0	24,0
	14,5	20,7
	33,5	50,0
	10,0	19,0
	15,5	20,0
MÉDIA (\bar{x})	17,0	25,0
MEDIANA (MI)	15,5	20,0

CORRELAÇÃO DE SPEARMANN

$$R_s = 0,0833$$

$$R_s^2 = 0,0069$$

TABELA 17 - PACIENTES ESQUISTOSSOMÓTICOS ANTES E APÓS TRATAMENTO COM OXAMNIQUINE SEGUNDO OS VALORES DOS PEPTÍDEOS SÉRICOS DO PROCOLÁGENO III

PSPCIII (ng/ml)		
	ANTES	APÓS
	19,0	14,0
	13,5	11,7
	11,0	13,9
	15,4	8,0
	11,5	10,6
	10,0	14,8
	9,0	13,0
	12,5	10,0
	13,3	6,4
	10,5	14,0
	13,8	7,5
	12,8	14,0
	12,7	16,8
	15,5	5,5
	10,7	10,5
	14,3	8,5
	18,9	9,2
	17,4	11,4
	16,1	14,1
MÉDIA (\bar{x})	13,6	11,3
MEDIANA (MI)	13,3	11,4

WILCOXON

T calc = 48,0

T crit ($\alpha = 0,05$) = 46

6. DISCUSSÃO

Fibrose hepática pode ser definida como excesso de tecido conectivo no fígado, que pode resultar da agregação de fibras prē-formadas (colapso) ou de nova formação de fibras (POPPER & UDENFRIEND, 1970) e/ou diminuição de sua degradação (DUNN e col., 1979).

Os conhecimentos atuais sobre a composição do fígado normal são necessários para compreender mecanismos envolvidos na fibrose hepática.

6.1 Composição Normal do Fígado

O fígado normal é constituído por seis tipos de células: hepatócitos, células endoteliais, de Kupffer, Ito, dos ductos biliares e "pit cells". Os hepatócitos ocupam cerca de 70 % do volume do fígado e representam 60 - 80% do número total de células. As células não parenquimatosas ocupam 10% do volume daquele órgão (ROJKIND & PONCE-NOYOLA, 1982; SEYER, 1982). O tecido restante é composto de pequena quantidade de matriz extra celular e de espaços que possibilitam comunicar as diferentes porções do fígado com o restante do organismo (espaços de Disse, sistemas vascular e linfático) e com o exterior daquele órgão (ductos biliares).

A matriz extracelular exerce uma importante função na sustentação do parênquima hepático, na formação

de fibras, modulação e diferenciação de células como hepatócitos (POPPER & MARTIN, 1982). Seus principais componentes são: água, íons, fibras colágenas, glicoproteínas não colágeno, proteoglicanos, glicosaminoglicanos.

Colágeno

O colágeno é a proteína mais abundante dos mamíferos sendo o principal constituinte da matriz extracelular hepática (HERNANDEZ, 1985). Pertence a um grupo de proteínas determinadas geneticamente, com tipos estruturais específicos e com ampla diversidade funcional (UITTO e col., 1986).

A molécula de colágeno é composta por três cadeias polipeptídicas paralelas, denominadas cadeias α , que têm forma helicoidal e entrelaçam-se umas sobre as outras adquirindo uma conformação em tríplice hélice (Fig. 1) formando uma estrutura rígida semelhante a um delgado segmento de corda (PROCKOP e col., 1979; FULLER, 1981 e PROCKOP e col., 1983).

As cadeias alfas têm 1000 resíduos de aminoácidos com uma sequência primária repetitiva (GLY-X-Y) onde a glicina está presente a cada três resíduos, o que torna possível a molécula ter estrutura em hélice. Quanto aos X e Y podem ser qualquer aminoácido, sendo X geralmente ocupado pela prolina e Y pela hidroxiprolina, os quais desempenham importante papel na estabilidade da tríplice hélice.

A organização das moléculas de colágeno em fibrilas e fibras depende das cadeias laterais de aminoácidos hidrófobos carregados eletricamente que ocupam X e Y na estrutura (GLY-X-Y). Eles opõem-se ao centro da triplíce hélice, determinando assim que moléculas individuais de colágeno, associem-se entre si para formar fibras (PROCKOP e col., 1983).

Mais de dez tipos de colágeno foram descritos e já caracterizadas vinte e três cadeias alfas (UITTO e col., 1986). Os vários tipos de colágeno diferem quanto ao conteúdo, à sequência primária de aminoácidos X e Y determinados geneticamente e em sua imunorreatividade (PROCKOP e col., 1979; POPPER & MARTIN, 1982). Os colágenos tipo I, II e III, chamados intersticiais por formarem fibras nos tecidos, e os tipos IV e V, que estão em maior intimidade com as células, são os mais exhaustivamente estudados (Tabela 18). Os colágenos tipo VI, VII, VIII, IX e X foram recentemente caracterizados (UITTO e col., 1986).

A distribuição dos diferentes tipos de colágeno no fígado normal foi identificada por métodos imunocitoquímicos. Os colágenos tipo I e III, dependendo da espécie animal considerada, representam 80-90% do total de colágeno do fígado normal. No homem o coeficiente de relação entre o colágeno tipo I e III é igual a 1, apresentando ambos distribuição semelhante, com localização nos tratos portais, veias hepáticas terminais, paredes arteriais e espaço de Disse (RAUTERBERG e col., 1981; HAHN & SCHUPPAN, 1983). O colágeno tipo IV está presente nas membranas basais dos vasos, ductos, ductulos biliares, nervos, e espaço

TABELA 18

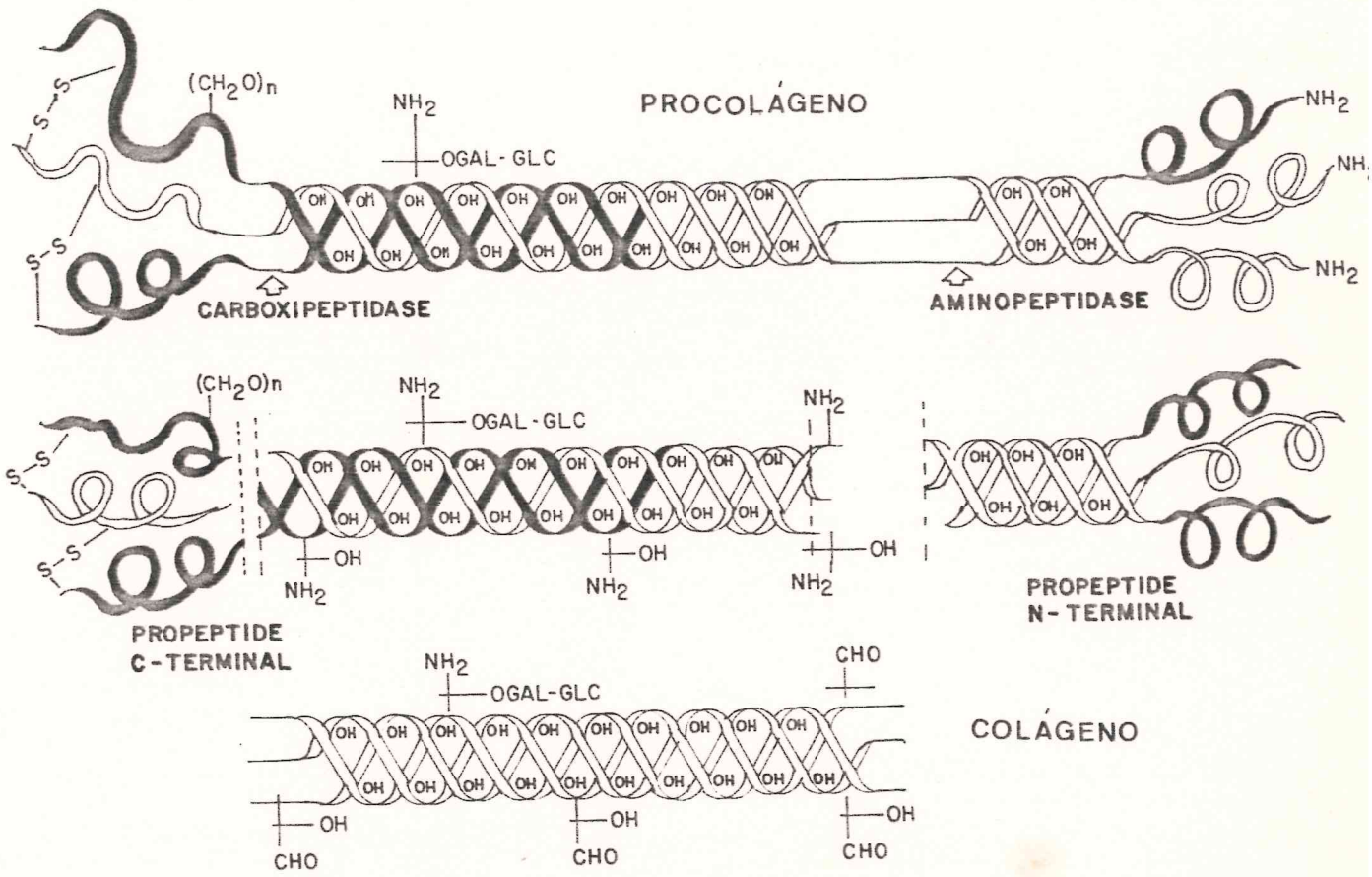
DISTRIBUIÇÃO DOS DIVERSOS TIPOS DE COLÁGENOS

TIPO	ESTRUTURA MOLECULAR	LOCALIZAÇÃO
I	$[\alpha_1(\text{I})]_2\alpha_2(\text{I})$	É o mais abundante tipo de colágeno. O maior componente do osso, tendão e pele. O tipo $[\alpha_1(\text{I})]_3$ é uma variante menor, foi encontrado no tecido embrionário em alguns modelos experimentais.
II	$[\alpha_1(\text{II})]_3$	Cartilagem hialina, fibrocartilagens em associação com o tipo I e em algumas estruturas do olho.
III	$[\alpha_1(\text{III})]_3$	Geralmente encontrado onde o tipo I está presente, aumentando sua quantidade nos vasos, pulmão e fígado. Elevado nos tecidos em proliferação como no desenvolvimento fetal, medula óssea e estágios iniciais de cicatrização.
IV	$[\alpha_1(\text{IV})]_2\alpha_2(\text{IV})$ $[\alpha_1(\text{IV})]_3$	Membranas basais, com alta concentração na cápsula da lente anterior, glomérulo e placenta.
V	$[\alpha_1(\text{V})]_2$ a $\alpha_2(\text{V})$ $\alpha_1(\text{V}), \alpha_2(\text{V})\alpha_3(3)$ ou $[\alpha_3(\text{V})]_3$	Colágeno de superfície celular ou em associação com membranas plasmáticas. Altas concentrações são encontradas nas membranas coriônicas; amniônicas e vasos capilares.

de Disse (HAHN e col., 1980; HAHN & SCHUPPAN, 1983). O colágeno tipo V encontra-se presente em algumas membranas basais e na região perisinusoidal em contacto íntimo com a membrana plasmática dos hepatócitos (ROJKIND & KERSHENOBICH, 1981) e o colágeno tipo VI em algumas membranas basais e espaço de Disse (HAHN & SCHUPPAN, 1983).

As cadeias polipeptídicas do procolágeno, pro- α são sintetizadas a partir da transcrição do DNA e translação pelo RNA mensageiro nos polirribossomos fixados ao retículo endoplasmático rugoso (RER). À medida que as cadeias α são formadas, passam através das membranas para as cisternas do RER onde ocorrem modificações pós translação tais como hidroxilação de resíduos prolyl e lisil, glicosilação de certos resíduos hidroxililil e formação de pontes dissulfídicas nas extensões peptídicas do procolágeno. Após tais modificações as cadeias pro- α adquirem uma conformação em tríplice hélice e são secretadas para o espaço extracelular, onde possivelmente as vesículas secretoras e microtúbulos exercem um importante papel nesse transporte (PROCKOP e col., 1979; ROJKIND & DUNN, 1979).

No espaço extracelular proteases específicas quebram as extensões terminais amino e carboxil da molécula de procolágeno, originando a molécula de colágeno (FESSLER & FESSLER, 1978) (Fig. 1). Entretanto esse evento nem sempre ocorre, encontrando-se nos tecidos, procolágenos parcialmente ou não processados. Uma das funções do procolágeno é a de prevenir a formação de fibrilas prematuras, tendo efeito regulador no crescimento fibrilar e inibição tipo "feed back" na síntese do colágeno (TIMPL, 1984).



CROSS-LINKING E FORMAÇÃO DE FIBRILA

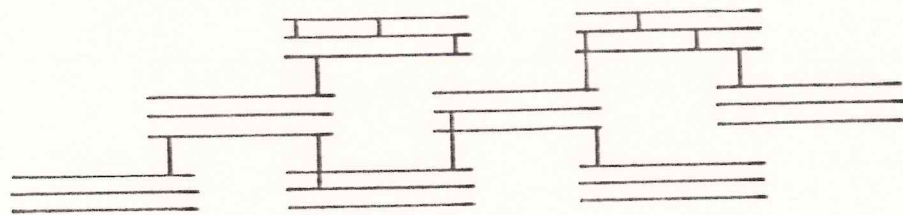


FIG.1 PROCESSAMENTO EXTRACELULAR DO COLÁGENO

As moléculas de colágeno após precipitarem-se nos tecidos, associam-se longitudinal e lateralmente formando fibrilas, e essas por sua vez, fibras, que entretanto não têm força de tensão e solubilizam-se facilmente. Posteriormente ocorrem ligações cruzadas "cross-links", intra e inter moléculas adjacentes de colágeno, dando estabilidade, elasticidade e pouca solubilidade ao colágeno (ROJKIND & DUNN, 1979).

Até recentemente acreditava-se que o colágeno fosse elaborado exclusivamente por fibroblastos e seus precursores (GALAMBOS e col., 1977). Entretanto em meio de cultura foi demonstrado que muitas células com excessão de linfócitos, leucócitos, macrófagos e eritrócitos podem produzir colágeno e outros componentes da matriz extracelular (POPPER & MARTIN, 1982). No fígado, estudos "in vitro" mostraram que hepatócitos, fibroblastos, e células de Ito participam da fibrogênese (ROJKIND & KERSHENOBICH, 1981). No homem, CLEMENT e col.(1986), estudaram em fígado de indivíduos normais e com hepatopatia fibrosante a distribuição do colágeno tipo I, III, IV e fibronectina intracelular e extracelular. Os resultados sugerem que hepatócitos, células de Ito e endoteliais estão envolvidas na produção dos componentes da matriz extracelular no fígado normal. Na fibrose, hepatócitos, que em fígado normal, não sintetizam colágenos tipo III e IV passam a sintetizá-los.

Os colágenos intersticiais são degradados predominantemente no extracelular, por colagenases específicas (Metaloproteínas) as quais quebram a molécula do colágeno a um quarto da porção terminal carboxil, permitindo

que a estrutura em triplíce hélice se desfaça. Em seguida uma série de outras proteases continuam o ataque às cadeias liberadas terminando por produzir uma completa dissolução da fibra. A lise do colágeno é regulada pela biossíntese e secreção de colagenases latentes (procolagenases), sua ativação por proteases, e pelo nível de inibidores séricos. É também influenciada pelo tipo de colágeno, sua agregação molecular e por pequenas alterações na temperatura (KRANE, 1985). Cerca de 20% do colágeno pode ser degradado dentro da célula antes da sua secreção, provavelmente não envolvendo as colagenases, sendo estimulado pelos níveis de AMP cíclico. Muitas células são capazes de sintetizar e secretar colagenases, como as epiteliais, inflamatórias, mesenquimais, células de Kupffer entre outras (POPPER & MARTIN, 1982; HAHN & SCHUPPAN, 1983).

Glicoproteínas não Colágeno

Entre as glicoproteínas somente a fibronectina e laminina foram devidamente isoladas e identificadas.

Fibronectina é uma grande glicoproteína multifuncional, constituída de duas cadeias polipeptídicas, ligadas por pontes dissulfídicas, apresentando-se sob forma solúvel no plasma e outros fluidos corporais tais como lágrima, leite, urina, líquido sinovial, líquor; e insolúvel no tecido conectivo intersticial e em associação com algumas membranas basais. Muitas das suas funções biológicas propostas advêm da sua propriedade de ligar à matriz celu-

las tais como fibroblastos, mioblastos, células de músculo liso, hepatócitos. Exerce também importante função no processo de cicatrização das lesões por ligar-se ao colágeno, estimular fibroplasia e atrair fibroblastos (POPPER & MARTIN, 1982). É abundante em tecidos embrionários, durante estágios iniciais do desenvolvimento da matriz, em culturas de fibroblastos e também em algumas condições patológicas. Parece estar envolvida nas fases iniciais de formação de tecido conectivo, podendo o conhecimento de sua deposição servir como valioso marcador para detectar estágios iniciais de fibrose nos tecidos (VAHERI e col., 1985). No fígado normal é encontrada nas membranas basais dos vasos sanguíneos e linfáticos, ductos, ductulos biliares e espaço perisinusoidal (HAHN e col., 1980).

Uma outra glicoproteína, laminina, encontra-se primariamente nas membranas basais, sendo co-distribuída com o colágeno tipo IV em muitos tecidos. No fígado normal encontra-se nas membranas basais, sendo normalmente vista nos ductos, ductulos biliares, capilares portais mas não no parênquima. Nos processos regenerativos encontra-se também no espaço perisinusoidal. Parece ter um importante papel na união de células epiteliais com a matriz extracelular, e na agregação célula-célula e células e glicosaminoglicanos (HAHN e col., 1980; ROJKIND & KERSHENOBICH, 1981).

Proteoglicanos, Glicosaminoglicanos

Proteoglicanos (PG) são um grupo heterogêneo de macromoléculas poliônicas, com números variáveis de cadeias lineares de glicosaminoglicanos (GAG) que são ligados por covalência a um núcleo proteico (HOOK e col., 1984). Atualmente são classificados de acordo com a composição do GAG, não estando em uso corrente o reagente para o estudo dos núcleos protéicos, sendo uma questão ainda não respondida se a medida do GAG reflete acuradamente a função e o metabolismo das moléculas intactas de PG (ARENSEN & BISSEL, 1987).

O fígado humano normal contém pequena quantidade de GAG, sendo que cerca de 70 - 75% são moléculas de heparansulfato, 10% de ácido hialurônico e 7% de molécula de condroitim sulfato (ROJKIND & PONCE-NOYOLA, 1982). Os GAG têm sido identificados nos compartimentos intranucleares e intracitoplasmáticos da célula poligonal e nos sinusóides, na face da membrana plasmática do hepatócito, e como constituinte da matriz extra celular. A superfície dos PG pode funcionar como receptor mediando importantes interações entre célula-célula e célula-matriz, podendo ainda exercer controle na replicação dos hepatócitos e ligar-se a outros componentes da matriz incluindo laminina e fibronectina. No espaço sub-endotelial podem criar uma barreira eletrostática com transferência aniônica de moléculas dos sinusóides à membrana plasmática do hepatócito, tendo uma função análoga a dos PG da membrana basal do rim, os quais restringem a filtração glomerular a albumina sérica (ARENSEN & BISSEL, 1987).

6.2 Fibrogênese

No fígado normal, os diversos componentes da matriz e as células encontram-se em constante relação e quantidade com os outros elementos que os rodeiam, estabelecendo-se interação entre célula-célula e célula-matriz. Cada tipo de célula do fígado tem função específica e produz metabólitos que são usados pela mesma espécie celular e ou por outras células localizadas ao longo dos sinusóides. Os hepatócitos não são todos idênticos quanto às atividades metabólicas pois estas na zona 3 (perivenular), podem ser diferentes das que se observam na zona 1 (periportal). As células parenquimatosas participam também com variável intensidade na síntese, deposição e remodelamento da matriz extra celular. A matriz por sua vez exerce função importante na modulação da expressão fenotípica das células, tendo forte influência no potencial metabólico das células hepáticas. Pode-se considerar portanto o fígado como um ecossistema onde independente dos fatores hormonais externos, existem fatores internos que controlam sua integridade anatómica e funcional (ROJKIND & VALADEZ, 1985).

Quando o tecido hepático é estimulado a se regenerar sob condições fisiológicas (crescimento) e patológicas (hepatectomia parcial), a proporção relativa entre células e matriz ainda permanece constante. Entretanto quando esse equilíbrio é rompido como ocorre nas lesões hepáticas crônicas, o resultado final é a diminuição da massa funcional do fígado com aumento dos elementos do tecido conectivo, havendo modificações estruturais e na distribuição das células e da matriz, ocasionando alterações na fun-

ção hepática e distúrbios hemodinâmicos (ROJKIND & VALADEZ; 1985).

Muitos agentes químicos e biológicos, são capazes de produzir lesão hepática e alterar a homeostase por diferentes mecanismos, contudo a cadeia de eventos que levam à cirrose é uma via comum, com semelhante composição de colágeno na cicatriz formada (ROJKIND e col., 1979). A resposta do hospedeiro à lesão pode variar dependendo da sua carga genética, natureza do agente lesivo, intensidade e frequência do estímulo (ROJKIND & KERSHENOBICH, 1981).

Fatores quimioatrativos para células do tecido conectivo fazem parte de mecanismos reguladores que controlam processos fibróticos. Nas lesões crônicas os diversos agentes iniciam uma resposta inflamatória que poderia manter uma constante e repetida liberação de mediadores biologicamente ativos, os quais podem recrutar fibroblastos, estimular sua proliferação, aumentar a síntese e secreção de colágeno, e outras substâncias da matriz (WAHL & WAHL 1981; GROTENDORST e col., 1985). Mediadores adicionais derivados de células mononucleares podem inibir ou suprimir a função desses fibroblastos, envolvendo o sistema imune na regulação do metabolismo do tecido conectivo em associação com a resposta imune inflamatória (WAHL, 1985). É possível que as monocinas estimulem a produção de prostaglandinas pelos fibroblastos e essas controlem a síntese e modulem a produção de colagenase (ROJKIND, 1982). Em condições normais as células de Kupffer produzem substâncias capazes de inibir e quando há lesão hepática, de estimular a proliferação de fibroblastos (ROJKIND & VALADEZ, 1985).

A fibrose hepática resulta de alterações de mecanismos homeostáticos que, como mencionado, mantêm as interações célula-célula e célula-matriz. A ruptura desse mecanismo pode ocorrer em consequência de lesão hepatocelular ou mesmo na sua ausência como ocorre, na esquistossomose. Na fibrose hepática o peso do fígado pode aumentar durante as fases iniciais da doença devido ao "inchaço" das células, acúmulo de gorduras e retenção das "export-proteins" (LIEBER, 1984). Em estudos experimentais se observou que, nas fases iniciais da doença o número de células não parenquimatosas está aumentado, devido à chegada de grande número de monócitos que pode igualar ao de hepatócitos (LAUTENSCHAGER e col., 1982).

Em lesões hepáticas experimentais, a fibrose inicia-se com o aumento da deposição de glicoproteínas e glicosaminoglicanos, que precedem o acúmulo de colágeno (POPPER & MARTIN, 1982). Nos estágios iniciais da fibrose, onde o aumento do conteúdo de colágeno não é tão grande, os colágenos tipo I e III apresentam proporções similares aos encontrados no fígado normal. Nas cirroses avançadas o conteúdo de colágeno aumenta de 5 a 7 vezes, com predomínio do colágeno tipo I e aumento na relação entre o colágeno tipo I e III. Vale ressaltar que modificações, na distribuição dos diferentes tipos de colágeno e concomitante distorção da arquitetura do fígado, podem ser mais importantes do que o aumento do conteúdo de colágeno em si. A principal alteração decorre de mudanças na relação parênquima (células) e estroma (matriz extra-celular) (ROJKIND, 1982).

6.3 Fibrose Hepática na Esquistossomose Mansônica

A esquistossomose é uma das causas importantes de fibrose hepática. O elemento patogênico básico é o ovo de *S. mansoni* e sua lesão fundamental é o granuloma periovular, considerado processo essencialmente fibrosante. O miracídio (larva que existe no interior do ovo) secreta uma substância lítica capaz de dar origem ao granuloma. O miracídio contém muitos antígenos sendo, porém, o mais importante o antígeno ovular solúvel (AOS), que é um complexo glicoproteico que provoca a formação de anticorpos em quase todas as subclasses de imunoglobulinas e sensibiliza as células T. Embora haja nos granulomas periovulares iniciais, elementos sugestivos de participação imunológica (acentuados depósitos de imunoglobulina, precipitação de imunocomplexos e atração de polimorfonucleares, especialmente eosinófilos) aqueles se tornam mais proeminentes em período mais tardio. Por essa razão, o granuloma periovular é considerado protótipo de uma reação de hipersensibilidade retardada (ANDRADE, 1986).

Como se sabe, a maioria dos esquistossomóticos, cerca de 90 - 95% dos casos, apresenta a forma HI, fato relacionado com processo de modulação imunológica dependente provavelmente da ativação de linfócitos T supressores. Na fase inicial os granulomas são grandes, com centro necrótico, mal delimitados na periferia e com muitos eosinófilos. Em fase posterior esses granulomas evoluem e deixam cicatriz fibrosa. Acresce que em torno dos novos ovos que chegam, os granulomas vão se tornando progressivamente menores, mais bem delimitados, sem centro necrótico e com

raros eosinófilos (ANDRADE, 1986). Desse modo o hospedeiro se protege produzindo reações menores em torno do ovo (e ainda sequestrando e impedindo a ação lítica do AOS). Associadamente com a modulação do granuloma há participação da imunidade humoral, contra reinfecções esquistossomóticas (atua destruindo as larvas das reinfecções).

Nos granulomas há macrófagos, eosinófilos, linfócitos e fibroblastos. No processo granulomatoso há substâncias mediadoras que estimulam "in vitro" a síntese (RAGHOW e col., 1984) e a proliferação (WYLER, 1983) de fibroblastos. Alguns acreditam que o AOS poderia ser estimulante direto para os fibroblastos e também estimular linfócitos sensíveis que instruem os macrófagos a secretar uma monocina estimuladora de fibrogênese. Os macrófagos sensibilizados além de estimular a proliferação fibroblástica e a síntese do colágeno secretam fibronectina (WYLER, 1983). Em camundongos infestados com cercárias de *S. mansoni* observou-se distribuição concêntrica de anti-corpos antifibronectina no granuloma hepático (PARISE e col., 1985).

Em estudos baseados em ultra estrutura pode-se observar além de aspectos indicativos de síntese, também de degradação de colágeno. Esta, se acha acentuada nos granulomas hepáticos, após a cura parasitológica.

Com relação à patogenia da fibrose na forma HE (onde existe fibrose portal sistematizada) o elemento fundamental parece ser a presença de inúmeros granulomas periovulares nas fases precoces do processo, embora múltiplos fatores possam estar envolvidos (ANDRADE, 1986). Ape-

çar da fibrose ser muito importante na patogenia da hepatopatia esquistossomótica, parece não haver correlação entre o grau de fibrose portal e o nível de hipertensão portal.

Sabe-se que, há maior incidência de HBsAg em esquistossomóticos HE do que em indivíduos normais (GUIMARÃES, 1973). A presença desse marcador em esquistossomóticos pode ocasionalmente corresponder a presença de hepatite crônica ou cirrose. Em estudo recente de 240 biópsias hepáticas relacionadas com varias formas de hepatite, havia 8 casos de esquistossomose. Entre esses, cinco apresentavam hepatite crônica ativa, (HCA) um hepatite crônica persistente (HCP) e um cirrose. O grau de atividade da hepatopatia foi considerado baixo em seis dos oito casos. Pesquisando no tecido hepático HBsAg e HBeAg, o autor encontrou positividade de ambos os marcadores em três casos, e apenas do HBsAg em um caso e embora a quantificação desses marcadores tenha sido também realizada, a casuística relativamente pequena não permitiu ao autor concluir sobre o comportamento dos marcadores do vírus B da hepatite em tecido hepático de esquistossomóticos HE (GAYOTTO, 1985). Autores, comparando dois grupos de esquistossomóticos com e sem hepatite crônica associada, verificaram que não houve diferenças significantes quanto aos aumentos de colágeno e de sua síntese (DUNN e col., 1979).

A fibrose hepática comumente determina o curso e o prognóstico da doença crônica, (FREI e col., 1984) sendo a principal responsável pelas alterações estruturais do fígado que podem evoluir para a cirrose.

Há atualmente grande interesse pelo estudo da fibrose pelo fato de alguns autores, como mencionado, terem observado bons resultados no tratamento desta lesão, com o emprego de drogas antifibrinogênicas.

"Quando se conseguir prevenir ou reduzir a fibrose hepática se estará à caminho da cura da maioria das doenças crônicas do fígado" (POPPER & BECKER, 1975).

A avaliação quantitativa e da extensão da fibrose só pode ser feita através de achados em material obtido por biópsia hepática, que entretanto não fornece perfil dinâmico da fibrogênese, podendo ainda ser limitada por erro de amostragem. Desse modo, o emprego de testes não invasivos relacionados com a fibrose poderia ser de grande utilidade, para o estudo de alguns aspectos de doenças crônicas do fígado. Métodos usados para avaliar a atividade fibrogênica no soro são baseados nos seguintes princípios: a) análise de produtos metabólicos necessários para a síntese ou liberados durante o processamento e degradação do colágeno, como as determinações da prolina e hidroxiprolina sérica e urinária e análise no soro do propeptídeo aminoterminal derivado do procolágeno tipo III. b) dosagens de metabólitos que induzem ou estimulam a síntese do colágeno "in vitro", tal como ácido lático. c) determinação de atividades de muitas enzimas envolvidas em modificações pós translação do colágeno, tais como prolil hidroxilase e ga-

lactosil hidroxililil glicosiltransferase (ROJKIND, 1984).

A determinação sérica da prolina e do ácido lático em pacientes com cirrose alcoólica poderia ser útil para o estudo da atividade da fibrose hepática (MATA e col., 1975; KERSHENOBICH e col., 1981). Em outras investigações, entretanto não foi confirmado o valor desses testes (SHAW e col., 1984; TANAKA e col., 1986).

A atividade da prolil hidroxilase no soro está elevada em doenças do fígado particularmente quando induzidas por álcool (TAKEUCHI & PROCKOP, 1969; KUUTTI-SAVOLAINEN e col., 1979; TORRES-SALINAS e col., 1986). Essa enzima está também elevada em muitas condições inflamatórias e quando há aumento da fração C1q do complemento, portanto nem sempre reflete a fibroplasia hepática (POPPER & MARTIN, 1982).

Como mencionado, durante a conversão do procolágeno III para colágeno, a fração aminoterminal do procolágeno III é clivada por enzimas específicas, permanecendo por algum tempo no soro pequena quantidade da mesma. Recentemente foi possível desenvolver um sensível radioimunoensaio com limite de detecção de 0,02 - 0,1 ng permitindo a determinação no soro dos aminopropeptídeos do procolágeno tipo III (ROHDE e col., 1978).

O procolágeno tipo III foi extraído da pele do feto do boi e sua fração aminoterminal denominada (Col 1-3) isolada após digestão do procolágeno tipo III com colagenase bacteriana. Esquemáticamente podemos dizer que sua estrutura apresenta: 1) um fragmento globular estabilizado por 5 pontes dissulfídicas em sua cadeia denominado

Col-1, 2) fragmento central com organização semelhante a do colágeno com três cadeias alfas em triplíce hélice, Col-3. 3) um outro fragmento na porção terminal carboxil do aminopropeptide denominado Col-2 (Fig. 2). A fração aminoterminal é fortemente antigênica e estimula a produção de anticorpos, os quais são específicos para o colágeno tipo III e não reagem cruzadamente com o colágeno (NOWACK e col., 1976; TIMPL & GLANVILLE, 1980; ROHDE e col., 1983; NIEMELA, 1985).

Os anticorpos utilizados no radioimunoensaio detectam principalmente o fragmento Col (1-3) da fração aminoterminal do procolágeno tipo III. Entretanto também podem ser detectados outros fragmentos com diferentes propriedades antigênicas e tamanho molecular (NIEMELA e col., 1982; NIEMELA, 1985). A presença desses diversos antígenos permite que a curva de inibição não corra totalmente paralela com a curva padrão, necessitando-se no mínimo de duas diluições para se obter um ponto que cruze a nível de 50% da curva padrão com os 50% da curva de diluição das amostras. Com esse artifício de cálculo se obtém um maior paralelismo com a curva padrão, aumentando a exatidão do método.

O procolágeno tipo III pode também se depositar nos tecido sem ter havido a clivagem da fração aminoterminal. Desse modo, a elevação dos PSPCIII pode ser devida, não somente ao aumento de síntese mas também da degradação do colágeno.

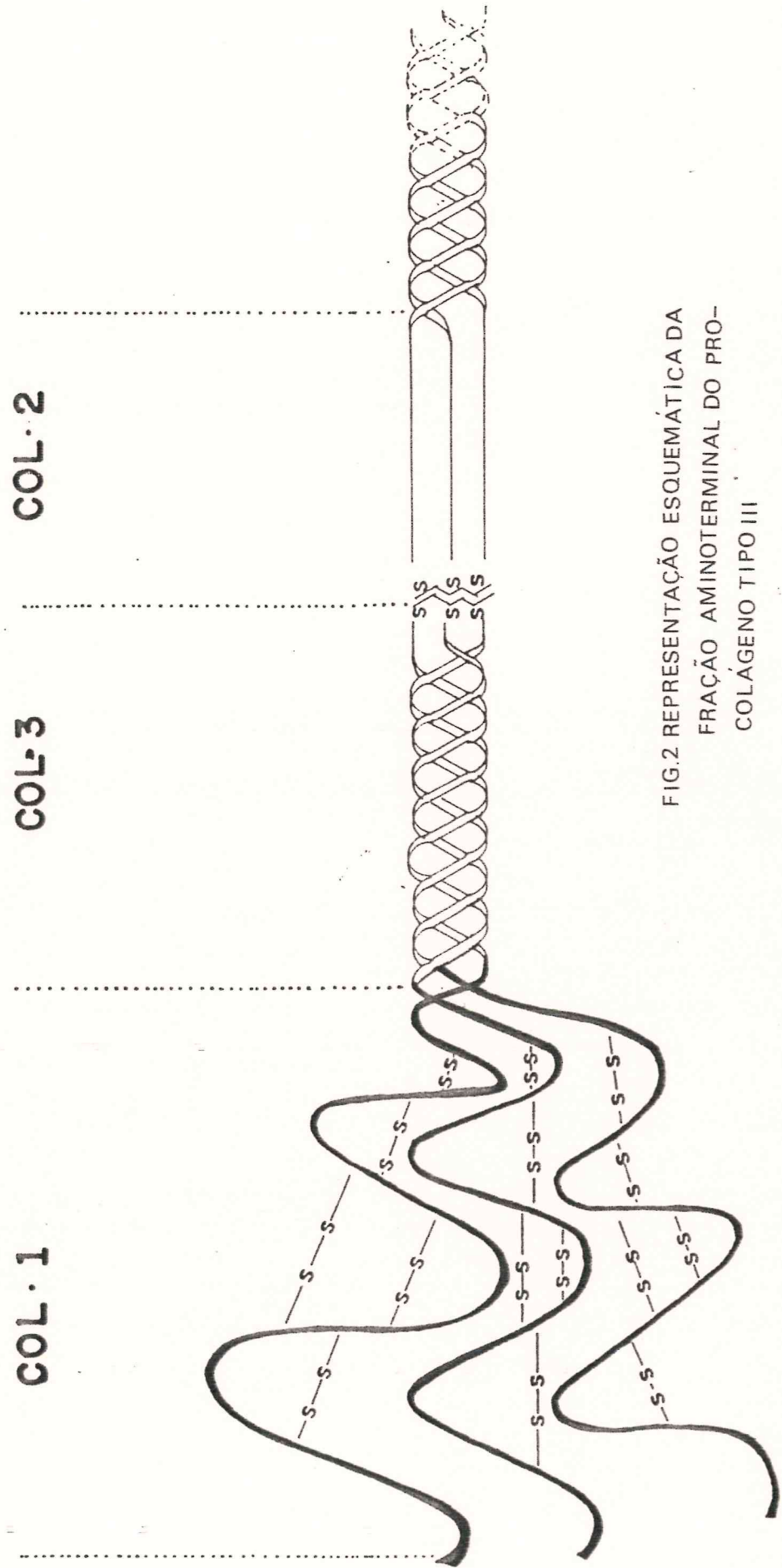


FIG.2 REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA
FRAÇÃO AMINOTERMINAL DO PRO-
COLÁGENO TIPO III

10

10

Os PSPCIII estão aumentados em diversas doenças hepáticas, possibilitando eventualmente distinguir hepatopatias fibróticas de não fibróticas (HAHN, 1984). Também se encontram níveis elevados dos PSPCIII em doenças não hepáticas fibrosantes, como mielofibrose (HOCHWEISS e col., 1983), fibrose pulmonar (LOW e col., 1983), doença de Paget (SIMON e col., 1984), em pacientes com insuficiência renal, em mulheres grávidas e crianças em fase de crescimento (HAHN & SCHUPPAN, 1983; FREI e col., 1984).

Em várias pesquisas foram observados aumentos dos PSPCIII em diversos tipos de hepatopatias.

ROHDE e col (1978) verificaram aumentos dos PSPCIII em 12 de 19 pacientes com cirrose ou hepatite alcoólica e em 6 pacientes com HCA.

ROHDE e col. (1979) determinaram a concentração dos PSPCIII em 29 pacientes com hepatopatia alcoólica, 17 com hepatite viral aguda (HVA), 17 com HCA, 14 com hepatopatia de outras etiologias entre as quais hepatocarcinoma sem cirrose, sarcoidose, cirrose biliar primária (CBP) e hemocromatose. Havia ainda 17 casos de artrite reumatóide (AR), 2 de esclerodermia, 2 de dermatomiosite, 1 de vitiligo, 1 de glomerulonefrite, 5 de doença de Crohn, 1 de miopatia periférica, 2 de Ehlers-Danlos, 1 de mieloma, 3 de insuficiência miocárdica, 3 de cardiomiopatia, 5 de fibrose pulmonar e 27 indivíduos sadios, como controle. Comparando os peptídeos nessas condições patológicas com os dos indivíduos normais, verificaram aumento significativo no grupo de pacientes com hepatopatia alcoólica, em alguns com HVA, em 20% dos casos com AR e em 70% dos pacientes com HCA.

ACKERMANN e col. (1981) estudaram 54 pacientes com hepatopatia crônica ativa de várias etiologias, encontrando PSPCIII aumentados em todos os casos.

ANNONI e col. (1982) estudaram retrospectivamente os PSPCIII em 24 pacientes com HVA, tendo como controle 17 pacientes com HCP e 38 indivíduos sadios. Encontraram valores aumentados em todos os pacientes com HVA, tendo havido, persistência dos aumentos dos PSPCIII nos casos que evoluíram para a HCA.

RAEDSCH e col. (1982) determinaram os PSPCIII em 47 pacientes com HCP, 53 com HCA, 22 com cirrose e 40 indivíduos normais. os PSPCIII estavam significativamente aumentados nos pacientes com HCA e cirrose e discretamente elevados nos que apresentavam HCP.

NIEMELA e col. (1983) estudaram os PSPCIII em 61 pacientes alcoólatras e 30 indivíduos, sadios. A média dos PSPCIII foi maior no grupo de alcoólatras, sendo que os valores mais elevados foram encontrados nos pacientes portadores de hepatite alcoólica, com cirrose. Alguns pacientes com esteatose ou cirrose inativa apresentaram níveis normais dos PSPCIII.

SAVOLAINEN e col. (1983) estudando os PSPCIII em 21 pacientes com CBP e 35 controles encontraram aumento em todos os pacientes com CBP.

COLOMBO e col. (1983) determinaram os PSPCIII em 16 pacientes com hemocromatose, em vários estágios da doença, encontrando elevações dos níveis dos peptídeos em 25% dos casos.

HAHN & SCHUPPAN (1983) encontraram valores significativamente aumentados dos PSPCIII em 31 pacientes com CBP quando comparados com os dos 38 indivíduos sadios.

FREI e col. (1984) estudando os PSPCIII em 111 pacientes com diversas hepatopias crônicas e como controle, 27 indivíduos sadios, encontraram aumentos significantes dos peptídeos nos pacientes portadores de cirrose alcoólica, HCA não tratada e CBP, havendo discreto aumento nos casos de HCP ou esteatose.

SAVOLAINEN e col. (1984) determinaram os PSPCIII em 60 pacientes com hepatopias alcoólicas, 14 com hepatopia não alcoólica e como controle, 14 indivíduos sadios. Verificaram que, em 90% dos pacientes com hepatite e cirrose alcoólicas os PSPCIII estavam marcadamente elevados havendo aumento moderado nos pacientes com esteatose.

WEIGAND e col. (1984) estudaram 4 casos de CBP, 5 de HCP, 12 de HCA e 1 de hepatite autoimune. Observaram aumento dos PSPCIII em todos os pacientes, exceto no portador de hepatite autoimune.

BOLARIN e col. (1984) estudaram 20 pacientes com cirrose, 90 com doenças infecciosas, inclusive esquistossomose mansônica, e 60 indivíduos sadios. Observaram que os PSPCIII estavam significativamente aumentados nos pacientes com cirrose, HVA, abscesso hepático amebiano, filariose, estágios iniciais das esquistossomose mansônica e hematobium. Não evidenciaram no entanto elevação daqueles peptídeos nos pacientes com malária.

LARUSSO e col. (1984) realizaram pesquisa em 56 pacientes com colangite esclerosante sendo 33 casos sem

cirrose, 23 com cirrose e 22 indivíduos sadios, como controle. Encontraram aumentos dos PSPCIII em 77% do total de pacientes e em 97% daqueles com cirrose.

COLOMBO e col. (1985), determinaram os PSPCIII em 73 pacientes com hepatopatia alcoólica e 30 com hemocromatose idiopática. Encontraram aumentos dos PSPCIII em 87% dos 30 pacientes com cirrose alcoólica, 16% dos 32 com esteatofibrose, em 33% dos 30 com hemocromatose e em nenhum dos 11 casos com esteatose.

TORRES-SALINAS e col. (1986) estudaram os PSPCIII em 19 pacientes com hepatite alcoólica tendo como grupo controle 9 etilistas crônicos com histologia hepática normal ou discreta esteatose. Verificaram aumentos significantes dos peptídeos em todos os pacientes com hepatite alcoólica, estando mais elevados naqueles que apresentavam fibrose intensa.

TANAKA e col. (1986) dosaram os PSPCIII em 31 pacientes com doença hepática alcoólica, sendo 2 com alterações inespecíficas, 3 com hepatite alcoólica, 17 com fibrose hepática sem cirrose, 9 com cirrose e 15 controles. Encontraram níveis significativamente elevados dos PSPCIII nos pacientes com hepatite alcoólica, fibrose hepática sem cirrose e nos cirróticos.

GEA e col. (1986) estudaram os PSPCIII em 17 pacientes com cirrose alcoólica, 21 com cirrose de outras etiologias, 14 com HCA, 7 com HCP e 11 controles. Encontraram aumentos dos peptídeos em todos os pacientes com doenças hepáticas.

ANNONI e col. (1986) estudaram prospectivamente os PSPCIII em 22 pacientes com HVA (19 com hepatite B e 3 com não-A, não-B) e como controle 30 pacientes com HCP, comprovada histologicamente, e 38 indivíduos sadios. Todos os pacientes com HVA apresentaram aumentos dos PSPCIII, que se normalizaram após resolução da hepatite, permanecendo com níveis elevados os pacientes que evoluíram para HCA.

HEREDIA e col. (1986) estudaram os PSPCIII em 45 pacientes com hepatopatia alcoólica, sendo 13 com esteatofibrose, 15 com hepatite alcoólica e 17 com cirrose inativa. Encontraram valores elevados dos PSPCIII em todos os grupos, verificando valores mais elevados nos casos de hepatite alcoólica.

McCULLOUGH e col. (1987) estudaram 46 pacientes com HCA e 22 indivíduos sadios. Observaram aumento dos PSPCIII EM 98% dos casos de HCA.

6.4 Níveis dos peptídeos séricos do procolágeno tipo III em pacientes com esquistossomose mansônica formas hepatointestinal e hepatoesplênica compensada.

Em revisão da literatura encontramos somente um trabalho (BOLARIN e col., 1984), em que foram determinados os PSPCIII em pacientes com esquistossomose mansônica. Os autores realizaram esse estudo em apenas 6 esquistossomóticos, todos nas "fases iniciais" da doença. Estudaram também duas enzimas envolvidas na síntese do colágeno (pro-

lil hidroxilase e galactosil hidroxilil glicosiltransferase). Verificaram correlação entre a elevação dos PSPCIII e a das mencionadas enzimas, e por essa razão, acreditam que a elevação dos PSPCIII possa se dever ao aumento da síntese do colágeno.

Para a classificação das formas clínicas, adotamos a de COUTINHO e DOMINGUES (1981), que tem sido utilizada para a realização de vários trabalhos em nosso meio. A diferenciação entre as formas HI e HE foi fundamentada em achados clínicos. A caracterização da forma HE teve também como base a presença de varizes de esôfago encontradas em 7 dos 9 casos estudados. Os esquistossomóticos HE devem ser considerados pertencentes ao subgrupo compensado, pois não apresentaram hemorragia, ascite, encefalopatia, ou icterícia. Acresce que na forma HE descompensada os níveis séricos de albumina estão em geral significativamente diminuídos (MINCIS e col., 1966), diferentemente dos observados neste trabalho.

Em nosso trabalho observamos que as médias dos valores dos PSPCIII nas formas HI (13 ng/ml) e HE (17 ng/ml) foram significativamente mais elevadas do que as do grupo controle (9 ng/ml). A diferença entre a média dos valores da forma HE e a dos da forma HI não foi estatisticamente significativa.

Consultando os trabalhos da literatura verificamos que as médias dos valores dos PSPCIII foram mais elevadas em pacientes com hepatite alcoólica (ROHDE e col. 1979; NIEMELA e col., 1983; SAVOLAINEN e col., 1984) cirrose (RAEDSCH e col., 1982; FREI e col., 1984; TANAKA e col.,

1986) e hepatite viral aguda (ROHDE e col., 1979; ANNONI e col. 1982). Valores que poderiam ser considerados moderadamente aumentados foram de um modo geral, observados em pacientes com HCA (ROHDE e col., 1979; ANNONI e col., 1982; RAEDSCH e col., 1982; FREI e col., 1984) e discretamente elevados nos que apresentavam HCP ou esteatose. Comparando com as médias dos valores dos peptídeos encontradas nessas pesquisas, verificamos que as médias dos valores obtidos em nosso trabalho se aproximam das observadas na HCP e esteatose.

Com relação à esquistossomose, os valores obtidos por BOLARIN e col. (1984) foram mais elevados do que os encontrados em nosso estudo. Todavia, devemos mencionar que não foi caracterizada a forma clínica da esquistossomose estudada pelos autores, podendo eventualmente corresponder a forma HI ou mesmo a forma aguda (toxêmica). Nesta, podem ser encontrados focos intralobulares de necrose e necrobiose com destruição dos hepatócitos (PRATA, 1976). Cerca de 20 - 25 dias após o banho infectante, há hepatite aguda intralobular em pequenos focos disseminados, caracterizada por necrose focal dos hepatócitos e exsudação, igualmente focal, predominantemente de leucócitos, linfócitos e raros histiócitos (RASO & BOGLIOLLO, 1970). As alterações hepáticas mencionadas poderiam, segundo alguns autores favorecer o aumento dos PSPCIII.

A faixa etária dos esquistossomóticos que estudamos, variou de 20 a 45 anos, diferentemente da dos pacientes estudados por BOLARIN e col. (1984) que variou de 15 a 19 anos. Sabe-se que indivíduos nesta faixa etária po-

dem apresentar valores dos PSPCIII mais elevados (FREI e col., 1984).

Quanto ao significado dos aumentos dos PSPCIII alguns autores encontraram correlação com o grau de fibrose (RAEDSCH e col., 1982; SAVOLAINEN e col., 1984; TANAKA e col., 1986; GEA e col., 1986; HEREDIA e col., 1986; KURTZ e col., 1987), com atividade fibrogênica (ACKERMANN e col., 1981; ANNONI e col., 1982), com atividade e grau de fibrose (FREI e col., 1984), com inflamação (ROHDE e col., 1979) inflamação e necrose (ROHDE e col., 1979; COLOMBO e col., 1985). Procurando proporcionar visualização de conjunto, podemos dizer que a maioria dos autores considera a determinação dos PSPCIII, como marcador útil para o estudo da fibrose hepática. Nesse sentido acreditamos ser oportuno comentar a respeito dos trabalhos de TORRES-SALINAS e col., (1986) e de KURTZ e col. (1987). TORRES-SALINAS e col., (1986) concluíram que os achados obtidos em sua pesquisa eram sugestivos de correlação dos PSPCIII com atividade fibrogênica e que não havia correlação entre esses peptídeos e a intensidade da necrose hepática. Os autores ressaltam ainda que os PSPCIII e a prolina hidroxilase estavam mais elevados em pacientes que apresentavam alterações histopatológicas comumente encontradas entre os que apresentam fibrose.

KURTZ e col. (1987) observaram, eventualmente pela primeira vez, que os níveis dos PSPCIII se correlacionam quantitativamente com a fibrogênese hepática, ou seja, com o aumento do conteúdo de colágeno no fígado. Os autores concluem afirmando que a determinação dos PSPCIII constitui

parâmetro quantitativo de fibrogênese hepática, sendo importante para a avaliação terapêutica, para estudo evolutivo a longo prazo e do prognóstico.

Consideramos difícil interpretar os nossos resultados pelo fato de não termos realizado estudo morfológico, que possibilitaria verificar se houve correlação entre os níveis dos PSPCIII e os achados histopatológicos do fígado. Estes poderiam também informar sobre a eventual coexistência de hepatite crônica associada à hepatopatia esquistossomótica. Para aquele estudo morfológico seria necessário biópsia em cunha, obtida através de cirurgia. Entretanto não houve indicação clínica para a realização desse exame nos grupos de esquistossomóticos estudados, formas HI e HE compensada, tendo existido portanto impedimento do ponto de vista ético.

As elevações dos PSPCIII devem ter ocorrido devido à própria hepatopatia, pois nenhum paciente apresentou outra doença fibrosante. As elevações dos PSPCIII não devem estar correlacionadas à diminuição da sua excreção renal, pois os níveis de uréia e creatinina se apresentaram dentro dos valores normais. Quanto à possibilidade da presença de hepatite B, desejamos lembrar que houve apenas um caso da forma HE, com HbsAg positivo. Vale referir que os níveis dos PSPCIII observados nesse paciente não estavam marcadamente elevados. Por outro lado, encontramos ALT e AST elevadas em um dos casos (nº 23) do grupo HE, compatível com associação de esquistossomose com outra condição patológica ou agravamento de doença hepática.

Acreditamos ser válido admitir que os aumentos dos PSPCIII não estejam, provavelmente, correlacionados exclusivamente com o grau, a extensão da fibrose, pois não houve diferença estatisticamente significativa entre os PSPCIII das formas HI e HE. Estudos de biópsia hepática realizada em esquistossomóticos, forma HE, que iam submeter-se a cirurgia por apresentarem hiperesplenismo, mostraram aumento da síntese e do conteúdo de colágeno (DUNN e col., 1979), resultados esses que confirmaram os obtidos experimentalmente por DUNN e col., (1977). É possível, portanto, que a síntese do colágeno esteja aumentada em esquistossomóticos e que os PSPCIII possam refletir o aumento da fibrogênese como mencionado por alguns autores (TORRES-SALINAS e col., 1986; KURTZ e col., 1987).

6.5 Níveis dos peptídeos séricos do procolágeno tipo III e atividades enzimáticas da aminotransferase da alanina, aminotransferase do aspartato, fosfatase alcalina e gama-glutamiltanspeptidase.

Em nossa pesquisa procuramos verificar como em outras existentes na literatura (com relação a doenças hepáticas de várias etiologias), se os PSPCIII poderiam fornecer informações adicionais quanto ao estudo de função hepática em esquistossomóticos HI e HE, ou seja, se os resultados de alguns testes enzimáticos se superpõem aos dos PSPCIII ou se constitui teste de valor para informações independentes (diversos dos acima citados).

Pacientes com esquistossomose mansônica, formas HI e HE compensada apresentam geralmente boa função hepática. Contudo há na literatura alguns trabalhos em que se observam pequenos aumentos de atividades séricas de AST, GGTP, FA (SAEZ-ALQUEZAR e col., 1976; GUIMARÃES e col., 1979; FLORENCIO e col., 1976), que poderiam eventualmente corresponder a disfunção hepática discreta.

Em nosso estudo constatamos que não houve diferença significativa entre a média dos valores de AST e ALT em pacientes da forma HI, quando comparada com a do grupo controle (Tabelas nº 5,6). Quanto ao grupo HE a média dos valores de AST e ALT foram sinificamente maiores do que a do grupo controle (Tabela nº 5,6).

Os nossos achados se aproximam dos de GUIMARÃES e col., (1979), no que diz respeito a AST e ALT nas formas HI pois também não observamos aumentos da atividade sérica dessas enzimas. Quanto aos valores de AST e ALT na forma HE aqueles autores verificaram aumento discreto apenas da primeira enzima mencionada.

Quanto a FA encontramos em nosso trabalho, aumentos significantes de atividade sérica nas formas da esquistossomose estudadas (Tabela nº 7). SAEZ-ALQUEZAR e col., (1976), observaram aumento dessa enzima em pacientes com esquistossomose mansônica forma HE e GUIMARÃES e col., (1979), nas formas HI e HE.

Com relação a GGTP encontramos aumento significativo dessa enzima apenas na forma HE (Tabela nº 8). FLORENCIO e col., (1976) também encontraram elevação da mencionada enzima na forma HE e GUIMARÃES e col., (1979) em

alguns casos nas formas HI e HE.

Ao estudarmos comparativamente os PSPCIII e as mencionadas enzimas, verificamos que não houve correlação entre os aumentos observados. A revisão da literatura permite observar que os resultados dos trabalhos existentes são discordantes quanto à referida correlação.

ANNONI e col., (1982) estudando pacientes com HVA, HCP, HCA não encontraram correlação entre PSPCIII e AST, ALT, bilirrubinas, FA.

RAEDSCH e col., (1982) verificaram que não houve correlação entre GGTP, AST, ALT, bilirrubinas totais, e ácidos biliares, quando estudaram pacientes com HCP, HCA e com cirrose alcoólica.

BRUNNER & EHRIG, (1985) ao estudarem pacientes com HVA, HCA, doença hepática alcoólica com ou sem cirrose e CBP, não encontraram correlação entre PSPCIII e AST, ALT, albumina, gama globulina e atividade protrombínica.

ROHDE e cols. (1979) encontraram uma pequena mas significativa correlação entre PSPCIII e bilirrubina total, IgG e AST, no soro de pacientes com hepatopatia alcoólica.

NIEMELA e col., (1983) verificaram significativa correlação entre PSPCIII e albumina sérica, bilirrubina total, AST e FA em pacientes com hepatopatia alcoólica.

FREI e col. (1984) verificaram fraca correlação entre PSPCIII e testes de função hepática sendo mais importante a com ácidos biliares conjugados e AST.

COLOMBO e col., (1985) estudando hepatopatia alcoólica e hemocromatose encontraram correlação dos

PSPCIII apenas com albumina sérica.

6.6 Valores dos peptídeos séricos do procolágeno tipo III antes e após o tratamento com oxamniquine

O tratamento específico da esquistossomose proporciona, como mencionado, bons resultados quanto à cura parasitológica e à reversibilidade de lesões hepáticas.

Em nosso trabalho o índice de cura observado no grupo estudado com 19 pacientes foi de 95%. O único caso que não respondeu ao tratamento foi o nº 5.

O tratamento quimioterápico usado em grande escala no Brasil contribuiu para diminuir o número de casos da forma HE, atuando não somente como curativo (BINA & PRATA, 1983), mas também como preventivo (BINA, 1981).

Estudos experimentais em camundongos, em estágios iniciais da esquistossomose forma HE, evidenciaram regressão da hepatoesplenomegalia, da hipertensão portal e das varizes esofageanas, após 10 semanas de tratamento com agentes quimioterápicos (CAMERON & BHATTACHARYA, 1965) e virtual desaparecimento da fibrose após 25 semanas (CAMERON & GANGULY, 1964).

Na fase crônica da mencionada parasitose verificou-se, também em camundongos, que após 25 semanas houve regressão da fibrose sem, entretanto, ter havido seu desaparecimento (WARREN & KLEIN, 1969).

Demonstrou-se no entanto, que o tratamento pode produzir regressão do granuloma resultando pequenos

focos cicatriciais (WARREN, 1972).

O tratamento específico pode proporcionar reversibilidade quase total das alterações vasculares portais, mesmo em fases avançadas, produzidas pelo *Schistosoma mansoni* (ANDRADE & BRITO, 1981).

Em estudo experimental se observou que o tratamento simultâneo com oxamniquine e hycanthone produz efeitos benéficos desde as fases bem iniciais e promove alterações nos granulomas perivasculares, indicando rápida, embora incompleta reabsorção da fibrose (ANDRADE & GRIMAUD, 1986).

Em nossa pesquisa bibliográfica não encontramos nenhuma investigação científica no homem que tenha demonstrado que a oxamniquine produziu regressão da fibrose embora, como mencionado, em estudos epidemiológicos se tenha observado, em alguns casos, a reversão da hepatoesplenomegalia (BINA E PRATA, 1983).

Em nosso estudo verificamos que a média dos valores dos PSPCIII foi de 13,6 ng/ml antes do tratamento e de 11,3 ng/ml após o emprego de oxamniquine, diferença entretanto não significante estatisticamente.

Ao término desta pesquisa desejamos comentar a respeito da conveniência de se incluir a determinação dos PSPCIII em estudos sobre fibrose hepática e da aplicabilidade clínica deste teste em pacientes com esquistossomose mansônica. Consultando vários trabalhos da literatura, alguns autores consideram útil o emprego desse teste na moni-

torização de pacientes com HVA, podendo contribuir para o diagnóstico diferencial entre HCP e HCA (ANNONI e col., 1982; RAEDSCH e col., 1982; HAHN & SCHUPPAN, 1983; WEIGAND e col., 1984; ANNONI e col., 1986). Outros afirmam que em pacientes com HCA a presença de níveis persistentemente elevados de PSPCIII sugere evolução para a cirrose (WEIGAND e col., 1984). Tem sido proposto, o uso deste teste para o seguimento de pacientes com hepatopatia alcoólica especialmente nas fases iniciais de fibrose (NIEMELA e col., 1983; TANAKA e col., 1986; TORRES-SALINAS e col., 1986). E também para avaliar a possível eficácia terapêutica de drogas antifibrinogênicas (TORRES-SALINAS). Na CBP os PSPCIII poderiam ser utilizados para avaliação do prognóstico, (ERICKSSON & ZETTERVALL, 1986) contribuindo para detectar a progressão de fases iniciais para as mais avançadas da doença (HAHN & SCHUPPAN, 1983).

Tendo surgido ultimamente o radioimunoensaio monovalente FAB (Fab. Fragmentos), considerado por alguns autores como mais promissor do que o teste com os PSPCIII, torna-se necessário saber se este deve ser substituído por aquele radioimunoensaio. Contribuição importante para esclarecer esse aspecto, foi a de trabalho recente em que se observou não haver nenhuma vantagem em se substituir o teste com PSPCIII pelo FAB fragmento e nem tão pouco utilizar associadamente ambos os testes (McCULLOUGH e col., 1987). Desse modo, acreditamos que para as pesquisas sobre fibrose esquistossomótica pode-se continuar utilizando a determinação dos PSPCIII naturalmente, como mencionado, incluindo quando indicado, o exame histopatológico, mas sempre ava-

liadas conjuntamente com os dados clínicos.

Quanto à aplicação clínica deste teste em esquistossomóticos, acreditamos que poderia ser utilizado em número restrito de casos, levando em consideração especialmente a relação custo e benefício. O seu emprego poderia eventualmente ser útil para a monitorização de pacientes esquistossomóticos que não responderam ao tratamento específico e que estivessem utilizando drogas antifibrinogênicas. Mas, acreditamos, que as principais indicações atuais para o emprego deste teste em esquistossomóticos, seriam para o estudo evolutivo daqueles pacientes em que o exame histopatológico mostrou existir associadamente hepatite aguda ou crônica.

7. CONCLUSÕES

1. Os níveis séricos dos peptídeos do procolágeno tipo III foram significativamente maiores em esquistossomóticos da forma hepatointestinal do que em indivíduos do grupo controle.

2. Os níveis séricos dos peptídeos procolágeno tipo III foram maiores em esquistossomóticos da forma hepatoesplênica do que em indivíduos do grupo controle.

3. Não houve diferença significativa quanto aos valores séricos dos peptídeos do procolágeno tipo III entre os grupos de pacientes das formas hepatointestinal e hepatoesplênica.

4. Não houve correlação entre os aumentos no soro do procolágeno tipo III e os da atividade sérica da aminotransferase do aspartato, da aminotransferase da alanina, fosfatase alcalina e gamaglutamiltranspeptidase.

5. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores dos peptídeos séricos do procolágeno tipo III observados no grupo de esquistossomóticos, antes e após 6 meses do tratamento com oxamniquine.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKERMANN, W.; POTT, G.; VOSS, B.; MULLER, K.M.; GERLACH, U.
- Serum concentration of procollagen - III - peptide in comparison with serum activity of N - acetyl - β - glucosaminidase for diagnosis of the activity of liver fibrosis in patients with chronic active liver diseases. Clin.Chim.Acta., 112:365-9, 1981.
- ANDRADE, Z.A. - Imunopatologia das doenças parasitárias do fígado. In: SILVA, A.O. & D'ALBUQUERQUE, L.C. Hepatologia clínica e cirúrgica. São Paulo, Sarvier, 1986. p.487-93.
- ANDRADE, A.Z. & BRITO, P.A. - Evolution of schistosomal hepatic vascular lesions after specific chemotherapy. Am.J.Trop. Med.Hyg., 30:1223-7, 1981.
- ANDRADE, Z.A. & GRIMAUD, J.A. - Evolution of the schistosomal hepatic lesions in mice after curative chemotherapy. Am.J. Pathol., 124:59-65, 1986.
- ANNONI, G.; CARGNEL, A.; COLOMBO, M.; HAHN, E.G. - Persistent elevation of the aminoterminal peptide of procollagen type III in serum of patients with acute viral hepatitis distinguishes chronic active hepatitis from resolving or chronic persistent hepatitis. J. Hepatol., 2:379-88, 1986.

- ANNONI, G.; HAHN, E.G.; CARGNEL, A.; VIGANO, P.; MARISCOTTI, C.; DIOGUARDI, N. ; COLOMBO, M. - Diagnostic value of serum procollagen in the development of chronic active hepatitis. In: LEVY, E. Advances in pathology. Oxford, Pergamon Press, 1982. v.2, p.269-72.
- ARENSEN, D.M. & BISSEL, D.M. - Glycosaminoglyca, proteoglycan and hepatic fibrosis. Gastroenterology, 92:536-8, 1987.
- BINA, J.C. - Influência da terapêutica específica na evolução da esquistossomose mansoni. Rev.Pat.Trop., 10:221-67, 1981.
- BINA, J.C. & PRATA, A. - Regressão da hepatosplenomegalia pelo tratamento específico da esquistossomose. Rev.Soc.Bras. Med.Trop., 6:312-8, 1983.
- BOLARIN, D.M.; SAVOLAINEN, E.R. ; KIVIRIKKO, K.I. - Three serum markers of collagen biosynthesis in nigerians with cirrohosis and various infections diseases. Eur.J.Clin. Invest., 14:90-5, 1984.
- BRUNNER, H. & EHRIG, C. - Procollagen III levels in serum: Do Thet provide additional information in liver disease? In: BRUNNER, H.; THALER, H. Hepatology, a festschrift for Hans Popper. New Yorkm Raven Press, 1985. p.251-6.

- CAMERON, G.R. & BHATTACHARYA, K.K. - Portal hipertension in experimental schistosomiasis. J.Pathol.Bacteriol., 89: 1-12, 1965.
- CAMERON, G.R. & GANGULY, N.C. - An experimental study of the pathogenesis and reversibility of schistosomal hepatic fibrosis. J.Pathol.Bacteriol., 87:217-37, 1964.
- CLEMENT, 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, 6:225-34, 1986.
- COLOMBO, M.; ANNONI, G.; DONATO, M.F.; CONTE, D.; MARTINES, D.; ZARAMELLA, M.G.; BIANCHI, P.A.; PIPERNO, A.; TIRIBELLI, C. - Serum type III procollagen peptide in alcoholic liver disease and idiopathic hemochromatosis: its relationship to hepatic fibrosis, activity of the diseases and iron overload. Hepatology, 5:475-9, 1985.
- COLOMBO, M.; ANNONI, G.; DONATO, M.F.; FARGION, S.; TIREBEILI, C.; DIOGUARDI, N. - Serum marker of type III procollagen in patients with idiopathic hemochromatosis and its relationship hepatic fibrosis. Am.J.Clin.Pathol., 80:499-502, 1983.

- COTRIM, P.H. & LYRA, C.G.L. - Doença hepática na esquistossomose mansoni. In: SILVA, O.A.; D'ALBUQUERQUE, L.C. Hepatologia Clínica e Cirúrgica. São Paulo, Sarvier, 1986. p.495-504.
- COUTINHO, A.D. & DOMINGUES, A.L.C. - Esquistossomose mansoni. In: DANI, R. & CASTRO, L.D. Gastroenterologia clínica. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1981. v.2, p. 1113-40.
- COUTINHO, A.D. & DOMINGUES, A.L.C. - Esquistossomose mansoni tratamento clínico. In: PRADO, F.C.; RAMOS, J.A.; VALLE, J.R. Atualização terapêutica. 13ª ed. São Paulo, Artes Médicas, 1985. p.268-72.
- DUNN, M.A.; KAMEL, R.; KAMEL, I.A.; BIEMPICA, L.; ELKHOLY, A.; HAIT, P.K.; ROJKIND, M.; WARREN, K.S.; MAHMOUD, A.A. F. - Liver collagen synthesis in schistosomiasis mansoni. Gastroenterology, 76:978-82, 1979.
- DUNN, M.A.; ROJKIND, M.; WARREN, K.S.; HAIT, P.K.; RIFAS, L.; SEIFTER, S. - Liver collagen synthesis in murine schistosomiasis. J.Clin.Invest., 59:666-74, 1977.
- ERIKSSON, S. & ZETTERVALL, O. - The N-terminal propeptide of collagen type III in serum as a prognostic indicator in primary billiary cirrhosis. J.Hepatol., 2:370-78, 1986.

- FESSLER, J.H. & FESSLER, L.I. - Biosynthesis of procollagen. Ann.Rev.Biochem., 47:129-62, 1978.
- FLORENCIO, J.N.; DOMINGUES, A.L.C.; PEREIRA, A.N.; COUTINHO, A. - Alterações enzimáticas do soro na esquistossomose mansônica. Rev.Bras.Pat.Clin., 12:135-6, 1976.
- FREI, A.; ZIMMERMANN, A.; WEIGAND, K. - The N-terminal propeptide of collagen type III in serum reflects activity and degree of fibrosis in patients with chronic liver disease. Hepatology, 4:830-4, 1984.
- FULLER, G.C. - Perspective for the use of collagen synthesis inhibitors as antifibrotic agents. J.Med.Chem., 24:651-8, 1981.
- GALAMBOS, J.T.; HOLLINGSWORTH, M.A.; FALEK, A.; WARREN, D.M.; McLAIN, J.R. - The rate of synthesis of glycosaminoglycans and collagen by fibroblasts cultured from adult human liver biopsies. J.Clin.Invest., 60:107-14, 1977.
- GAYOTTO, L.C.C. - Lesões hepáticas devidas aos vírus das hepatites B, delta e não-A, não-B. Comparação das variáveis histológicas e sua relação com marcadores virais séricos e teciduais. São Paulo, 1985. [Tese de livre docência - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo]

- GEA, F.; HARO, J.; ORTIZ, J.; MOREN, J.; DE LETONA, J.M.L.; ALBILLUS, A.; BARRIOS, C.; ESCARTIN, P. - Utility of the aminoterminal peptide of type III procollagen in the assessment of the fibrinogenic activity of the liver. Dig. Disc.Sci., 31(suppl.10):39, 1986.
- GROTENDORST, G.R.; PAGLIA, L.; McIVOR, C.; BARSHY, S.; MARTINET, Y.; PENCEV, D. - Chemoattractants in fibrotic disorders. In: Fibrosis. London, Pitman Books, 1985. p. 150-63. (Ciba Foundation Symposium 114)
- GUIMARÃES, R.X. - Frequência do antígeno Austrália em indivíduos normais, índios do parque nacional do Xingú e portadores de esquistossomose mansônica. São Paulo, 1973. [Tese de Doutorado - Escola Paulista de Medicina]
- GUIMARÃES, R.X.; PRICOLI, T.I.; NOVO, N.F.; PAIVA, E.R. - Enzimas séricas em indivíduos portadores de esquistossomose mansônica. Rev.Ass.Med.Bras., 25:166-70, 1979.
- HAHN, E.G. - Blood analysis for liver fibrosis. J.Hepatol., 1:67-73, 1984.
- HAHN, E.G. & SCHUPPAN, D. - Collagen metabolism in liver disease. In: BIANCHI, L.; GEROK, N.L.; LANDMANN, K. Liver in metabolic diseases. Lancaster, MTP press, 1983. p. 309-23.

- HAHN, E.G.; WICK, G.; PENCEV, D.; TIMPL, R. - Distribution of basement membrane proteins in normal and fibrotic human liver: collagen type IV, laminin, and fibronectin. Gut, 21:63-71, 1980.
- HEREDIA, D.; CABALLERIA, J., PERÉS, S.A.; JIMENEZ, W.; TORRES, M.; BRUGUERA, M. & RODES, J. - Serum procollagen type III peptide does not reflect hepatic collagen content in alcoholics with inactive cirrhosis. J.Hepatol. (suppl.2):252, 1986.
- HERNANDEZ, A.M. - La matriz extracelular hepática. In: SIMPOSIUM INTERNATIONAL HISPANOPARLANTE DE HEPATOLOGIA, 2, Cocoyoc, México, 1985. Proceedings, México, 1985. p. 41-43.
- HOCHWEISS, S.; FRUCHTMAN, S.; HAHN, E.G.; GILBERT, H.; DONOVAN, P.B.; JOHNSON, J.; GOLDBERG, J.D.; BERK, P.D. - Increased serum procollagen III aminoterminal peptide in myelofibrosis. Am.J.Hematol., 15:343-51, 1983.
- HOFFMAN, W.A.; PONS, J.A. ; JANER, J.L. - The sedimentation concentration method in schistosomiasis mansoni. Puerto Rico. J.Publ.Hlth.Trop.Med., 9:283-89, 1934.
- HOLLANDER, M. & WOLFE, D.A. - Nonparametric statistical methods. John Wiley & Sons, New York, 1973. p.1-503.

HOOK, M.; KYELLÉN, L.; JOHANSSON, S.; ROBINSON, J. - Cell surface glycosaminoglycans. Annu.Rev.Biochem., 53:847-69, 1984.

INSTRUCTION BOOKLET: RIA-Procollagen-III-Peptide. Behringwerke Ag, 1981.

JIMENEZ, W.; PARÉS, A.; CABALLERÍA, J.; HEREDIA, D.; BRUGUERA, M.; TORRES, M.; ROJKIND, M.; RODÉS, J. - Measurement of fibrosis in needle liver biopsies: Evaluation of a colorimetric method. Hepatology, 5:815-8, 1985.

KATZ, N.; ROCHA, R.S.; LAMBERTUCCI, J.R.; GRECO, D.B.; PEDROSO, E.R.P.; ROCHA, M.O.C.; FLAIN, S. - Clinical trial with oxamniquine and praziquantel in the acute and chronic phases of schistosomiasis mansoni. Rev.Inst.Med.Trop. São Paulo 25:173-7, 1983.

KERSHENOBICH, D.; GARCIA-TSAO, G.; PÉREZ-TAMAYO, R.; ROJKIND, M. - Treatment of liver cirrhosis with colchicine: a double blind randomized trial from 1973 to 1983. Hepatology, 4:1061, 1984.

KERSHENOBICH, D.; GARCIA-TSAO, G. ; SALDANA, S.A. - Relationship between blood lactic acid and serum proline in alcoholic liver cirrhosis. Gastroenterology, 80:1012-5, 1981.

- KERSHENOBICH, D.; URIBE, M.; SUÁREZ, G.I.; MATA, J.M.; PE-
RÉZ-TAMAYO, R.; ROJKIND, M. - Treatment of cirrhosis with
colchicine. A double-blind randomized trial. Gastroente-
rology, 77:532-6, 1979.
- KILPATRICK, M.E.; FARID, Z.; BASSILY, S.; EL MARSY, N.A.;
TRABOLSI, B.; WATTEN, R.H. - Treatment of schistosomiasis
mansoni with oxamniquine: five years experience. Am.J.
Trop.Med.Hyg., 30:1219-22, 1981.
- KRANE, S.M. - The turnover and degradation of collagen. In:
Fibrosis. London, Pitman Books. 1985. p.97-100. (Ciba
Foundation Symposium 114)
- KURTZ, W.; HAMMANN, T.; FISCHER, H.; LEUSCHNER, U. - Serum
procollagen type III peptide correlates with hepatic fi-
brogenesis. Gastroenterology, 82:1747, 1987.
- KUUTTI-SAVOLAINEN, E.R.; RISTELLI, J.; MIETTINEN, T.A.; KI-
VIRIKKO, K.I. - Collagen biosynthesis enzymes in serum
and hepatic tissue in liver disease. I. Prolyl hidroxy-
lase. Eur.J.Clin.Invest., 9:89-95, 1979.
- LARUSSO, N.F.; STASSEN, W.N.; WIESNER, R.H.; McCULLOUGH, A.
J.; BEAVER, S.J. - Serum levels of procollagen III: An
index of fibrogenesis in primary sclerosing cholangitis.
Hepatology, 4:1057, 1984.

- LAUTENSCHAGER, I.; VAANEN, H.; KULONEN, E. - Quantitative study on the Kupffer cells in the liver of ethanol and carbon tetrachloride treated rats. Acta.Path.Microbiol. Immunol.Scand., 90:347-51, 1982.
- LIEBER, C.S. - Alcohol and the liver: 1984 UPDATE. Hepatology, 4:1243-60, 1984.
- LOW, R.G.; CUTRONEO, K.R.; DAVIS, G.S.; GIANCOLA, M.S. - Lavage type III procollagen N-terminal peptides in human pulmonary fibrosis and sarcoidosis. Lab.Invest., 48:755-9, 1983.
- MACHADO, P.A. - Programa especial brasileño de control de la esquistosomiasis: el modelo. Bol.Ofic.Sanit.Panamer., 87: 416-31, 1979.
- MATA, J.M.; KERSHENOBICH, D.; VILLARREAL, E.; ROJKIND, M. - Serum free proline pool of hidroxiprolina in patients with chronic liver disease. Gastroenterology, 68:1265-9, 1975.
- McCULLOUGH, A.J.; STASSEN, W.N.; WIESNER, R.H.; CZAJA, A.J. - Serial determinations of the amino-terminal peptide of type III procollagen in severe chronic active hepatitis. J.Lab.Clin.Med., 109:55-61, 1987.

- MINCIS, M.; GUIMARÃES, R.X. VILELA, M.P. - Esquistossomose mansônica. Aspectos clínicos e do perfil eletroforético das proteínas séricas. São Paulo, Impress, 1966. p.48-9.
- NIEMELA, O. - Radioimmunoassays for type III procollagen aminoterminal peptides in human. Clin.Chem., 31:1301-4, 1985.
- NIEMELA, O.; RISTELI, L.; SOTANIEMI, E.A.; RISTELI, J. - Aminoterminal propeptide of type III procollagen in serum in alcoholic liver disease. Gastroenterology, 85: 254-9, 1983.
- NIEMELA, O.; RISTELI, L.; SOTANIEMI, E.A.; RISTELI, J. - Heterogeneity of the antigens related to the aminoterminal propeptide of type III procollagen in human serum. Clin.Chim.Acta., 124:39-44, 1982.
- NOWACK, H.; OLSEN, B.R.; TIMPL, R. - Characterization of the amino-terminal segment in type III procollagen. Eur.J. Biochem., 70:205-16, 1976.
- PARISE, E.R.; SUMMERFIELD, J.A.; HAHN, E.; WIDMANN, K.N.; DOENHOFF, M.J. - Basement membrane proteins and type III, procollagen in murine schistosomiasis. Trans.R. Trop.Med.Hyg., 79:660-3, 1985.

- POPPER, H. & BECKER, K. - Overview and future of hepatic collagen metabolism. In: Collagen metabolism in the liver. New York, Stratton Intercontinental, 1975. p.227-39.
- POPPER, H. & MARTIN, E.R. - Fibrosis of the liver: the role of the Ectoskeleton. In: POPPER & SCHAFFNER. Progress in liver diseases. New York, Grunne & Stratton, 1982. p.133-56.
- POPPER, H. & UDENFRIEND, S. - Hepatic fibrosis. Correlation of biochemical and morphologic investigations. Am.J.Med., 49:707-21, 1970.
- PRATA, A. - Esquistossomose mansoni. In: VERONESI, R. Doenças infecciosas e parasitárias. 6ªed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1976. p.869-88.
- PROCKOP, D.J.; KIVIRIKKO, K.I.; TUDERMAN, L.; GUZMAN, N.A. - The biosynthesis of collagen and its disorders. N.Engl. J.Med., 301:13-23, 1979.
- PROCKOP, D.J.; TUDERMAN, L.; GUZMAN, N.A. - Colágeno en el tejido conectivo normal y enfermo. In: McCART, D.J. Artritis y enfermedades conexas. 9ªed. Buenos Aires, Panamericana, 1983. p.197-206.

- QUICK, A.J. - Protrombin in hemophilia and in obstructive jaundice. J.Biol.Chem., 109:75-85, 1935.
- RAEDSCH, R.; STIEHL, A.; WALDHERR, R.; MALL, G.; GMELIN, K.; GÖTZ, R.; WALKER, S.; SZYGAN, P.; KOMMERELL, B. - Procollagen type III peptide serum concentrations in chronic persistent and chronic active hepatitis and in cirrhosis of the liver and their diagnostic value. Z.Gastroenterol., 20:738-43, 1982.
- RAGHOW, R.; GOSSAGE, D.; SEYER, J.M.; KANG, A.H. - Transcriptional regulation of type I collagen genes in cultured fibroblasts by a factor isolated from thiocetamide induced fibrotic rat liver. J.Biol.Chem., 259:12718-23, 1984.
- RASO, P. & BOGLIOLO, L. - Patologia. In: CUNHA, A.L. Esquistossomose mansoni. São Paulo, Sarvier, 1970. p.77-130.
- RAUTERBERG, J.; VOSS, B.; POTT, G.; GERLACH, U. - Connective Tissue components of the normal and fibrotic liver. Klin. Wochenschr., 59:767-79, 1981.
- ROHDE, H.; BRUCKNER, P.; TIMPL, R. - Immunochemical properties of the aminopeptide of procollagen type III. Eur.J.Biochem., 135:197-202, 1983.

ROHDE, H.; HAHN, E.; TIMPL, R. - Radioimmunoassay for amino-terminal procollagen peptides in liver disease. Fresenius Z.Anal.Chem., 290:151-2, 1978.

ROHDE, H.; VARGAS, L.; HAHN, E.; KALBFLEISCH, H.; BRUGUERA, M.; TIMPL, R. - Radioimmunoassay for type III procollagen peptide and its application to human liver disease. Eur. J.Clin.Invest., 9: 451-9, 1979.

ROJKIND, M. - Fibrogenesis. In: ARIAS, I.; POPPER, H.; SCHACHTER, D. & SHAFRITZ, D.A. - The liver: Biology and pathobiology. New York, Raven Press, 1982. p.801-9.

ROJKIND, M. - Liver fibrosis. In: GITNICK. Current hepatology. Chicago, Year Book Medical Publishers, 1986. v.6,p.111-29.

ROJKIND, M. - The blue glass and the predictive value of serum aminoterminal propeptide of type III procollagen as a marker of liver fibrosis. Hepatology, 4:977-978, 1984.

ROJKIND, M. & DUNN, M.A. - Hepatic fibrosis. Gastroenterology, 76:863-949, 1979.

ROJKIND, M.; GIAMBRONE, M.A.; BIEMPICA, L. - Collagen types in normal and cirrhotic liver. Gastroenterology, 76:710-9, 1979.

ROJKIND, M. & KERSHENOBICH, D. - Hepatic fibrosis. Clin. Gastroenterol. 10:737-54, 1981.

ROJKIND, M. & PONCE-NOYOLA, P. - The extracelular matriz. Collagen.Rel.Res., 2:152-74, 1982.

ROJKIND, M. & VALADEZ, G. - Regulation of fibroblast proliferation by Kupffer cells and monocytes. In: Fibrosis. London, Pitman Books, 1985. p.208-21. (Ciba Foundation Symposium 114)

SAEZ-ALQUEZAR, A.; CHAMONE, D.A.F.; OHTSUKI, N.; MAGNANELLI, A.C.; MIES, S.; RAIÁ, A.; RAIÁ, S.; SILVA, L.C. - Determinação da atividade enzimática da guanase e gama-glutamil transpeptidase em hepatopatias agudas e crônicas. Comparação com outros parâmetros bioquímicos de avaliação funcional hepática. Arch.Gastroent. S.Paulo, 13:159-67, 1976.

SAVOLAINEN, E.R.; GOLDEBERG, B.; LEO, A.M.; VELEZ, M.; LIEBER, C.S. - Diagnostic value of serum procollagen peptide measurements in alcoholic liver disease. Alcohol.Clin.Exp.Res., 8:384-9, 1984.

SAVOLAINEN, E.R.; MIETTINEN, T.A.; PIKKARAINEN, P.; SALASPURO, M.P.; KIVIRIKKO, K.I. - Enzymes of collagen synthesis and type III procollagen aminopropeptide in the evaluation of d-penicillamine and medroxyprogesterone treatments of primary biliary cirrhosis. Gut, 24:136-42, 1983.

- SEYER, J.M. - Effect of long-term ethanol feeding on rat liver interstitial collagens. J.Lab.Clin.Med., 100:193-200, 1982.
- SHAW, S.; WORNER, T.M.; LIEBER, C.S. - Frequency of hiperprolinemia in alcoholic liver cirrhosis. Relationship to blood lactate. Hepatology, 4:295-9, 1984.
- SIEGEL, S. - Estadística no paramétrica. México, Editorial Trillas, 1975. p.1-346.
- SIMON, L.S.; KRANE, S.M.; WORTMAN, P.D.; KRANE, I.M.; KOVITZ, K.L. - Serum levels of type I and III procollagen fragments in Paget's disease of bone. J.Clin.Endocrinol.Metab., 58: 110-20, 1984.
- SLEIGH, A.C.; MOTTI, K.E.; HOFF, R.; MAGUIRE, J.H.; SILVA, J. T.F. - Manson's schistosomiasis in Brazil: 11 year evaluation of successful disease control with oxamniquine. Lancet, 1:635-7, 1986.
- TANAKA, Y.; MINATO, Y.; HASHUMURA, Y.; TAKEUCHI, J. - Evaluation of hepatic fibrosis by serum proline and amino-terminal type III procollagen peptide levels in alcoholic patients. Dig.Dis.Sci., 31:712-7, 1986.
- TAKEUCHI, T. & PROCKOP, K.J. - Procollagen proline hidroxilase in normal and in hepatic fibrosis. Gastroenterology, 56:744-50, 1969.

- TIMPL, R. - Processed and non-processed forms of procollagens. Biochem.Soc.Trans., 12:924-7, 1984.
- TIMPL, R. & GLANVILLE, R.W. - The aminopropeptide of collagen. Clin.Orthop., 158:224-42, 1980.
- TORRES-SALINAS, M.; PARÉS, A.; CABALLERÍA, J.; JIMENEZ, W.; HEREDIA, D.; BRUGUERA, M.; RODES, J. - Serum procollagen type III peptide as a marker of hepatic fibrogenesis in alcoholic hepatitis. Gastroenterology, 90:1241-6, 1986.
- UITTO, J.; MURRAY, L.W.; BLUMBERG, B.; SHAMBAN, A. - Biochemistry of collagen in diseases. Ann.Intern.Med., 105:740-56, 1986.
- VAHERI, A.; SALONEN, E.M.; VARTIO, T. - Fibronectin in formation and degradation of the pericellular matrix. In: Fibrosis. London, Pitman Books, 1985. p.111-26. (Ciba Foundation Symposium 114)
- WAHL, S.M. - Host immune factors regulating fibrosis. In: Fibrosis. London, Pitman Books, 1985. p.175-95. (Ciba Foundation Symposium 114)
- WAHL, S.M. & WAHL, L.M. - Modulation of fibroblast growth and function by monokines and lymphokines. Lymphokines, 2:179-201, 1981.

WARREN, K.S. - The influence of treatment on the development and course of murine hepatosplenic schistosomiasis mansoni. Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg., 56:510-9, 1972.

WARREN, K.S. & KLEIN, L. - Chronic murine hepatosplenic schistosomiasis mansoni: Relative irreversibility after treatment. Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg., 63:333-7, 1969.

WEIGAND, K.; ZAUGG, P.Y.; FREI, A.; ZIMMERMANN, A. - Long-term follow-up of serum N-terminal propeptide of collagen type III levels in patients with chronic liver diseases. Hepatology, 4:835-8, 1984.

WYLER, D.J. - Regulation of fibroblast functions by products of schistosomal egg granulomas: potential role in the pathogenesis of hepatic fibrosis. In: Cytopathology of parasitic disease. London. Pitman Books, 1983. p.190-206. (Ciba Foundation Symposium 99)