

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA

Vinícius Tejada Nunes

MARCADORES INFLAMATÓRIOS E BIOQUÍMICOS EM PORTADORES DE
HEPATITE VIRAL C AO LONGO DO TRATAMENTO COMBINADO COM
INTERFERON ALFA PEGUILADO E RIBAVIRINA

Dissertação de Mestrado

URUGUAIANA

2017

VINÍCIUS TEJADA NUNES

**MARCADORES INFLAMATÓRIOS E BIOQUÍMICOS EM PORTADORES DE
HEPATITE VIRAL C AO LONGO DO TRATAMENTO COMBINADO COM
INTERFERON ALFA PEGUILADO E RIBAVIRINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Bioquímica da Fundação Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Bioquímica.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Jacqueline C. E. Piccoli
Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Vanusa Manfredini

**Uruguaiiana
2017**

VINÍCIUS TEJADA NUNES

**MARCADORES INFLAMATÓRIOS E BIOQUÍMICOS EM PORTADORES DE
HEPATITE VIRAL C AO LONGO DO TRATAMENTO COMBINADO COM
INTERFERON ALFA PEGUILADO E RIBAVIRINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Bioquímica da Fundação Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Bioquímica.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Jacqueline C. E. Piccoli
Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Vanusa Manfredini

Área de concentração: Bioprospecção
Molecular

Dissertação defendida e aprovada em: 15 de setembro de 2017.

Banca examinadora:

Profa. Dr.^a. Jacqueline da Costa Escobar Piccoli
Orientadora
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica - UNIPAMPA

Profa. Dr.^a. Cheila Denise Ottonelli Stopiglia
Universidade Federal do Pampa

Profa. Dr.^a. Morgana Duarte da Silva
Universidade Federal do Pampa

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

N972m Nunes, Vinícius Tejada
MARCADORES INFLAMATÓRIOS E BIOQUÍMICOS EM PORTADORES DE HEPATITE VIRAL C AO LONGO DO TRATAMENTO COMBINADO COM INTERFERON ALFA PEGUILLADO E RIBAVIRINA / Vinícius Tejada Nunes.
73 p.

Dissertação(Mestrado)-- Universidade Federal do Pampa, MESTRADO EM BIOQUÍMICA, 2017.
"Orientação: Jacqueline da Costa Escobar Piccoli".

1. hepatite viral C. 2. parâmetros bioquímicos. 3. marcadores inflamatórios. 4. proteínas de fase aguda. 5. tratamento combinado. I. Título.

Ao meu amado filho Bernardo e à minha esposa Vanusa pelo amor, incentivo, apoio e por serem a grande razão da minha vida.

AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus, por iluminar meu caminho, guiar meus passos e colocar nessa minha caminhada pessoas que me ajudaram e apoiaram nesse estudo.

Agradeço à minha esposa, Vanusa, por sempre acreditar em mim e sempre estar ao meu lado em todos os momentos! Muito obrigado meu amor! Eu te amo muito!

Ao meu filho, Bernardo, por me tornar muito mais feliz e realizado! Eu que sempre achei que teria tanto pra te ensinar mas sequer imaginava o quanto aprenderia e aprendo contigo! Eu te amo muito meu filho querido!

A minha orientadora Jacque, pela amizade e confiança na realização desse trabalho!

Às professoras que Morgana e Cheila, pela disponibilidade em compor a banca. Suas contribuições serão muito importantes e enriquecedoras! Muito obrigado!

Ao CAMMI e seus profissionais por toda ajuda na realização desse estudo, principalmente as farmacêuticas Raqueli Bittencourt e Mariana Ziolkowski. Muito obrigado!

Ao Laboratório de Análises do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e seus profissionais.

Aos pacientes que aceitaram e confiaram na realização desse trabalho! Muito obrigado por acreditarem na Ciência!

Muito obrigado à Juliana Mezzomo pela parceria na realização deste estudo!

Ao GESTOX pelo constante aprendizado!

Ao PPG Bioquímica e seus professores pelo aprendizado.

A todos que me ajudaram durante esse projeto.

Muito obrigado!

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica
Fundação Universidade Federal do Pampa

MARCADORES INFLAMATÓRIOS E BIOQUÍMICOS EM PORTADORES DE HEPATITE VIRAL C AO LONGO DO TRATAMENTO COMBINADO COM INTERFERON ALFA PEGUILADO E RIBAVIRINA

Autor: Vinícius Tejada Nunes
Orientadora: Jacqueline da Costa Escobar Piccoli
Local e Data da Defesa: Uruguaiana, 15 de setembro de 2017.

As hepatites virais representam um dos maiores problemas de saúde pública no mundo e também no Brasil devido à alta prevalência. Na região Oeste do Rio Grande do Sul, os municípios que fazem fronteira com a Argentina e o Uruguai apresentam o maior número de casos notificados, sendo que no município de Uruguaiana, o vírus da hepatite C é o mais prevalente. A hepatite C crônica é assintomática na grande maioria dos casos, o que torna seu diagnóstico muito difícil, entretanto, exames bioquímicos de rotina são importantes no monitoramento da infecção e do processo inflamatório no fígado. O quadro de hepatite C crônica pode evoluir a cirrose ou a um hepatocarcinoma, levando o portador ao óbito. O tratamento dos portadores inclui a terapia antiviral combinada do interferon alfa peguilado e ribavirina, medicamentos distribuídos pelo Sistema Único de Saúde (SUS). Entretanto, pesquisas apontam que portadores da hepatite C crônica em tratamento combinado apresentam vários efeitos adversos em nível sistêmico. Assim, o objetivo deste trabalho foi determinar marcadores inflamatórios e bioquímicos em portadores da hepatite C crônica que fazem terapia combinada com interferon alfa peguilado e ribavirina. Os 43 portadores foram recrutados no serviço de referência do município de Uruguaiana (CAMMI) e submetidos a uma coleta de sangue total em tubo EDTA (10 mL) após concordarem com a participação no estudo. As informações clínicas do portador foram obtidas através dos prontuários dos mesmos e os parâmetros bioquímicos e inflamatórios foram determinados através de kits comerciais. Os resultados obtidos para os marcadores de função hepática (TGO, TGP, GGT e FAL) estão estatisticamente aumentados, enquanto os níveis de albumina e adiponectina estão significativamente diminuídos no grupo HCV em relação ao grupo controle. Além disso, foi observado a melhora nos níveis desses marcadores bioquímicos ao longo do tratamento combinado. Já as proteínas de fase aguda e a expressão de citocinas inflamatórias encontram-se com níveis estatisticamente aumentados no grupo HCV em relação ao grupo controle, mas, ao longo da terapia combinada há uma redução estatisticamente significativa nos níveis desses marcadores alcançando valores semelhantes ao grupo controle. Com isso, sugere-se que ao final da terapia combinada houve a melhora do processo inflamatório hepático o que contribui para a qualidade de vida do portador.

Palavras-chave: hepatite viral C, parâmetros bioquímicos, marcadores inflamatórios, nível de proteínas de fase aguda, tratamento combinado.

ABSTRACT

Dissertation of Master's Degree
Program of Post-Graduation in Biochemistry
Federal University of Pampa

INFLAMMATORY AND BIOCHEMICAL MARKERS IN VIRAL HEPATITIS C CARRIERS ALONG THE TREATMENT COMBINED WITH INTERFERON PEGUILED ALPHA AND RIBAVIRIN

Author: Vinícius Tejada Nunes
Advisor: Jacqueline da Costa Escobar Piccoli
Date and Place of Defense: Uruguaiiana, September, 15, 2017.

Viral hepatitis represents one of the greatest public health problems in the world and also in Brazil due to the high prevalence. In the western region of Rio Grande do Sul, the municipalities bordering Argentina and Uruguay have the highest number of reported cases, and in the municipality of Uruguaiiana, the hepatitis C virus is the most prevalent. Chronic hepatitis C is asymptomatic in the vast majority of cases, which makes its diagnosis very difficult; however, routine biochemical examinations are important in monitoring infection and inflammation in the liver. Chronic hepatitis C can progress to cirrhosis or hepatocarcinoma, leading to death. Treatment of carriers includes combined antiviral therapy of pegylated interferon alfa and ribavirin, drugs distributed by the Unified Health System. However, research indicates that patients with chronic hepatitis C in combination treatment have several adverse effects at the systemic level. Thus, the objective of this study was to determine inflammatory and biochemical markers in patients with chronic hepatitis C who are taking combination therapy with pegylated interferon alpha and ribavirin. The 43 patients were recruited at the referral service of the municipality of Uruguaiiana (CAMMI) and submitted to a collection of whole blood in EDTA tube (10 mL) after agreeing to participate in the study. The clinical information of the carrier was obtained through the patient's medical records, and the biochemical and inflammatory parameters were determined through commercial kits. The results found in hepatic function markers (GOT, GTP, GGT and ALP) are statistically increased at the time of HCV diagnosis in relation to the control group. On the other hand, the levels of albumin and adiponectin are significantly decreased in the HCV group compared to the control group. An improvement in the levels of these biochemical markers was observed throughout the combined treatment. Acute phase proteins have statistically increased levels in the HCV group compared to the control group, however, throughout the combined therapy there is a statistically significant reduction in the levels of these proteins reaching similar values to the control group. The expression of inflammatory cytokines is statistically increased at the time of HCV diagnosis in relation to the control group, and again, the combined treatment reduces their levels statistically. With this, it is suggested that at the end of the combined therapy there was an improvement in the inflammatory process of the liver, which contributes to the quality of life of the patient.

Keywords: hepatitis C, biochemical markers, inflammatory cytokines, acute phase proteins levels, combination therapy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - História Natural da Hepatite C.....	21
Figura 2 - Estrutura do vírus da hepatite C (HVC).....	22
Figura 3 - Mecanismo de infecção pelo vírus da hepatite C.....	24
Figura 4 - Taxa de detecção de hepatite C segundo região de residência e ano de notificação.....	27
Figura 5 - Distribuição dos óbitos associados às hepatites virais segundo agente etiológico.	28
Figura 6 - Proporção de casos de hepatite C segundo provável fonte ou mecanismo de infecção e ano de notificação.....	29
Figura 7 - Casos de hepatite viral C notificados no município de Uruguaiana-RS de 2007 a 2015.....	30

MANUSCRITO

Figure 1 - Acute phase proteins levels.....	55
Figure 2 - Expression of Proinflammatory Interleukins.....	57

LISTA DE TABELAS**MANUSCRITO**

Table 1 -	Socio-demographic profile of viral hepatitis C bearers in the study.....	52
Table 2 -	Hepatic function markers and adiponectin levels in participants of the study	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AMPK - proteína quinase ativada por adenosina monofosfato
- CAMMI - Centro de Aplicação e Monitorização de Medicamentos Injetáveis
- DNA - ácido desoxirribonucléico
- DST - doença sexualmente transmissível
- ELISA - Ensaio Imunossorvente Ligado à Enzima
- HCV - vírus da hepatite C
- HIV- vírus da imunodeficiência humana
- IFN - interferon
- IFN α - interferon alfa
- IFN β - interferon beta
- IL - Interleucina
- IL-1 - interleucina-1
- IL-1- α - interleucina-1-alfa
- IL-1- β - interleucina-1-beta
- IL-6 - interleucina-6
- IL-8 - interleucina-8
- MS - Ministério da Saúde
- NK - células natural killer
- OMS - Organização Mundial da Saúde
- PCR - proteína C reativa
- PCRus - proteína C reativa ultrasensível
- PEG-INF - interferon alfa peguilado
- RNA - ácido ribonucléico
- RVS - resposta virológica sustentada
- SAA - proteína amilóide sérica A
- SINAN - Sistema de Informação de Agravos de Notificação
- SUS - Sistema Único de Saúde
- SVS - Secretaria de Vigilância em Saúde
- TNF- fator de necrose tumoral
- TNF- α - fator de necrose tumoral alfa

SUMÁRIO

PARTE I	15
1 INTRODUÇÃO	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1 Hepatites Virais	19
2.1.1 Hepatite C	20
2.1.2 Vírus da hepatite C	21
2.2 Epidemiologia	25
2.2.1 No mundo	25
2.2.2 No Brasil	26
2.2.3 No Município de Uruguaiiana	29
2.3 Diagnóstico da Hepatite C	30
2.4 Tratamento	31
2.5 Inflamação no Fígado e a Resposta Imune ao HCV	33
2.6 As Citocinas na Hepatite C	34
2.6.1 Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α)	36
2.6.2 Interleucina-1 (IL-1)	37
2.6.3 Interleucina-6 (IL-6)	38
2.6.4 Interleucina-8 (IL-8)	39
2.7 Adiponectina	39
2.8 Proteínas de Fase Aguda	41
2.8.1 Proteína C Reativa ultrasensível (PCRus)	41
2.8.2 Proteína Amilóide Sérica A (SAA)	42
2.8.3 Fibrinogênio	43
3 OBJETIVOS	44
3.1 Objetivo geral	44
3.2 Objetivos específicos	44
PARTE II	45
MANUSCRITO	45
Abstract	47
1 Introduction	48

2 Material and methods	48
3 Results	51
4 Discussion	57
5 Conclusion	60
Conflicts of interest statement	60
References	60
PARTE III	63
4 CONCLUSÃO	63
5 PERSPECTIVAS	64
REFERÊNCIAS	65

APRESENTAÇÃO

A presente dissertação foi dividida em três partes principais. Na **parte I** encontram-se a **INTRODUÇÃO**, a **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA** e os **OBJETIVOS**. Os resultados que fazem parte desta dissertação, assim como as seções material e métodos, resultados, discussão e referências, estão apresentados sob a forma de manuscrito, no item **MANUSCRITO**, que está na **parte II** deste trabalho. O item **CONCLUSÃO**, que apresenta interpretações e comentários gerais sobre os resultados mostrados nos manuscritos deste trabalho, encontra-se na **parte III** desta dissertação, assim como o item **PERSPECTIVAS**, onde estão expostos os possíveis estudos para dar continuidade a este trabalho, e o item **REFERÊNCIAS**, que se refere somente às citações que aparecem nos itens introdução e revisão bibliográfica desta dissertação.

PARTE I

1 INTRODUÇÃO

As hepatites virais são doenças provocadas por diferentes agentes etiológicos, com tropismo primário pelo tecido hepático, que apresentam características epidemiológicas, clínicas e laboratoriais semelhantes, porém com importantes particularidades. Representam um dos maiores problemas de saúde pública no mundo e também no Brasil devido à alta prevalência (CONTE, 2000a; FOCACCIA 2007; MESSINA et al., 2015), ao aumento de sua incidência na população mundial, da alta frequência de evolução para as formas crônicas da doença e do seu impacto econômico para a sociedade, além de não ter vacinação específica (LU et al., 2016).

Estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS) indicam que, aproximadamente, 170 milhões de indivíduos estejam infectados pelo vírus da hepatite C (HCV) e que três milhões de novos casos ocorram a cada ano. No Brasil, segundo dados da mesma organização, 2,5% a 4,9% da população encontra-se infectada por este agente (WHO, 2017). Na região da Fronteira Oeste do Rio Grande do Sul, o município de Uruguaiana apresenta maior prevalência da infecção pelo HCV. Dados da Secretaria Municipal de Saúde apontaram no ano de 2014, 376 novos casos notificados, sendo destes 56 do tipo C (www.uruguaiana.rs.gov.br).

O HCV foi identificado por Choo e colaboradores em 1989 nos Estados Unidos e é o principal agente etiológico da hepatite crônica sendo que sua transmissão ocorre principalmente por via parenteral (CONSENSO SOBRE CONDUTAS NAS HEPATITES VIRAIS B e C, 2002; MOHD et al 2013). São consideradas populações de risco elevado para a infecção pelo HCV por via parenteral: indivíduos que receberam transfusão de sangue e/ou hemoderivados antes de 1993, usuários de drogas injetáveis (cocaína, anabolizantes e complexos vitamínicos), inaláveis (cocaína) ou pipadas (crack) que compartilham os equipamentos de uso, pessoas com tatuagem, *piercings* ou que apresentem outras formas de exposição percutânea (por exemplo: consultórios odontológicos, podólogos, manicures, etc., que não obedecem as normas de biossegurança). A transmissão sexual é pouco frequente e ocorre principalmente em pessoas com múltiplos parceiros e com prática sexual de risco, sendo que a coexistência de alguma doença sexualmente transmissível (DST) - inclusive o

vírus da imunodeficiência humana (HIV) - constitui-se um importante facilitador dessa transmissão (BRASIL, 2007; CHAYAMA et al., 2011).

A hepatite crônica é assintomática na grande maioria dos casos, o que torna seu diagnóstico muito difícil. Infelizmente, as manifestações clínicas só aparecem quando já há um alto grau de comprometimento hepático. Na maioria das vezes, o diagnóstico precoce ocorre nos hemocentros, a partir da triagem em doadores de sangue ou na população que realiza exames de rotina regularmente (CONSENSO SOBRE CONDUTAS NAS HEPATITES VIRAIS B e C, 2002; CHAYAMA et al., 2011).

O diagnóstico da hepatite C pode ser realizado na sequência de manifestações clínicas, mas, na maioria das vezes, é feito de forma esporádica, no decurso da investigação de alterações das transaminases ou de um programa de rastreamento. O diagnóstico da hepatite C baseia-se na identificação do vírus ou dos seus anticorpos. No seguimento clínico dos portadores da hepatite C utilizam-se dois tipos de testes virológicos: testes sorológicos e testes de biologia molecular (CHAYAMA et al., 2011).

No Brasil, o Ministério da Saúde (MS) distribui, desde 1999, combinações de medicamentos através das Secretarias de Saúde Estaduais, envolvendo um significativo consumo de recursos para o Sistema Único de Saúde (SUS). Em 26 de junho de 2000, foi publicado o primeiro protocolo nacional traçando as diretrizes para o tratamento da hepatite C crônica no Brasil (BRASIL, 2000). A portaria nº 34 da SVS/MS, de 28 de setembro de 2007, garante à população o direito a este tratamento e especifica indicações de uso dos diferentes esquemas, critérios de inclusão e exclusão para o tratamento, dosagem e posologia, duração do tratamento, monitoramento da terapêutica e critérios de interrupção (BRASIL, 2000; BRASIL, 2007).

A terapia antiviral dos portadores com hepatite C tem como finalidade reduzir o risco de morbidade e mortalidade associado à infecção crônica, objetivando a erradicação do vírus. Isto significa obter uma resposta virológica sustentada (RVS) - ausência de detecção de RNA HCV no soro utilizando-se ensaio com sensibilidade de pelo menos 100 cópias (50 UI) por mililitro que deve ser alcançada ao final do tratamento e 6 meses após a descontinuação da terapia (GRETCH, et. al., 1993; BRASIL, 2007).

O interferon alfa foi o primeiro medicamento a demonstrar atividade contra o HCV no começo da década de 1990 (PETERS, 1989; MEDEIROS-FILHO et al., 2000). Esse fármaco é uma citocina que compõe a resposta inata do hospedeiro humano e sua utilização alcançava taxas muito baixas de RVS. Em meados da década de 90 foram desenvolvidos os interferons alfa peguizados (PEG-INF), cuja adição de uma molécula de polietilenoglicol ao interferon

alfa prolonga a ação, eleva a velocidade de absorção, aumenta a meia-vida e reduz o *clearance* do interferon, melhorando seu perfil farmacocinético e sua eficácia, minimizando os efeitos adversos, com possíveis ganhos na aderência ao tratamento. Em meados da década de 1990, descobriu-se que a ribavirina, um análogo da guanósina, administrada diariamente por via oral, aumentava as taxas de resposta terapêutica sustentadas nos pacientes que passaram a utilizar a terapia combinada (MANNS et al., 2001; MCHUTCHISON & PATEL, 2001; BRASIL, 2011).

O tratamento das formas crônicas baseia-se na combinação de PEG-INF com a ribavirina, um análogo de guanósina que interrompe o metabolismo de RNA viral. O período de tratamento de 24 a 48 semanas depende do genótipo encontrado, obtendo-se um *clearance* em torno de 80% para os genótipos virais 2 e 3 e cerca de 40% para o genótipo 1 (GHANY, 2009; GOWER et al., 2014). Ao longo do tratamento, o portador realiza exames hematológicos, bioquímicos e quantifica a carga viral para o monitoramento das lesões no fígado (MCHUTCHISON & PATEL, 2001; GOWER et al., 2014). É essencial que o portador de hepatite C crônica compreenda os objetivos do tratamento e seus eventos adversos, recebendo auxílio da equipe multiprofissional, que deve propiciar vínculo, responsabilização conjunta e suporte para evitar o abandono do tratamento (BRASIL, 2011).

Entretanto, o uso crônico do PEG-INF combinado com a ribavirina pode trazer efeitos adversos ao portador da hepatite C, entre os quais destaca-se: mielossupressão, neutropenia, plaquetopenia e anemia, alterações gastrointestinais, dermatológicas, cardiovasculares, pulmonares, renais, entre outras. Por isso, exames laboratoriais de rotina que avaliem a função de cada órgão ou sistema são importantes no monitoramento e avaliação da progressão da doença (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007; JAESCHKE, 2011).

Estudos recentes apontam que os portadores de hepatite C apresentam lesões hepáticas mais graves e prolongadas, com alterações ultraestruturais mitocondriais e grande comprometimento dos processos de fosforilação oxidativa. Os mecanismos pelos quais o HCV causa dano celular e tecidual ainda não são totalmente compreendidos (WANG et al., 2002; TARDIFF et al., 2005; WARIS & AHSAN, 2006).

Uma das notáveis características do vírus da hepatite C é a habilidade de evadir do sistema imune do hospedeiro infectado. A viremia persiste em 85% - 90% dos indivíduos infectados e, aproximadamente, 70% dos quais desenvolvem algum grau de lesão hepática crônica. Também há potencial para progredir para cirrose e carcinoma hepatocelular, com presença de grande atividade inflamatória que tem relação direta com essas graves consequências (CONTE, 2000b; MARTÍNEZ-ESPARZA et al., 2015). Estudo publicado

recentemente mostrou que a infecção crônica pelo HCV pode estar associada com desequilíbrio de citocinas inflamatórias e, estas desempenham um papel importante na eficácia do tratamento farmacológico. A análise da expressão de citocinas inflamatórias durante a infecção pelo HCV pode auxiliar na elucidação dos mecanismos de interações hospedeiro-HCV e identificar os preditores do tratamento combinado do interferon alfa peguilado e da ribavirina (BELTRA & DECALUWE, 2016; LU et al., 2016).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Hepatites Virais

As hepatites virais são um grupo de viroses sistêmicas hepatotrópicas que produzem quadros de hepatite aguda (inaparente ou sintomática), mas que, dependendo do agente etiológico, da carga viral e das condições do hospedeiro, pode evoluir para hepatite crônica, cirrose, câncer de fígado e formas agudas fulminantes. Essas infecções virais constituem atualmente uma relevante questão de saúde pública no Brasil e no mundo, pois distribuem-se de maneira universal, atingindo vários segmentos da população e causando grande impacto de morbidade e mortalidade (GAZE et al., 2013; BRASIL, 2016).

As hepatites virais agudas e crônicas são doenças provocadas por diferentes agentes etiológicos, sendo eles os vírus da hepatite A, B, C, D ou E, com tropismo primário pelo tecido hepático, apresentando características epidemiológicas, clínicas e laboratoriais semelhantes, porém com importantes particularidades. A distribuição das hepatites virais é universal, sendo que a magnitude dos diferentes tipos varia de região para região. No Brasil, também há grande variação regional na prevalência de cada hepatite. A doença tem um amplo espectro clínico, que varia desde formas assintomáticas, anictéricas e ictericas típicas, até a insuficiência hepática aguda grave (fulminante). A maioria das hepatites virais agudas é assintomática, independentemente do tipo de vírus. Quando apresentam sintomatologia, são caracterizadas por fadiga, mal-estar, náuseas, dor abdominal, anorexia e icterícia. A hepatite crônica, em geral, cursa de forma assintomática, mas infelizmente as manifestações clínicas aparecem quando a doença está em estágio avançado, com relato de fadiga, ou, ainda, quando seu desfecho é a cirrose (COSTA PASSOS, 2003; BRASIL, 2008; BRASIL, 2015; MARTÍNEZ-ESPARZA et al, 2015).

Determinados vírus podem se propagar de diferentes modos e circular simultaneamente com outros na mesma localidade, configurando natureza espectral e cambiante de transmissão no tempo e no espaço. Isso agrega complexidade à formulação de propostas de prevenção e controle para esses agravos. A versatilidade ecológica desses vírus, potencializada pelo curso subclínico ora prolongado de grande parte das infecções, constitui-se em um desafio epidemiológico (GAZE et al., 2013).

2.1.1 Hepatite C

O vírus da hepatite C (HCV) é o agente responsável pela inflamação do fígado cuja progressão leva à hepatite C. Esta enfermidade constitui um dos mais importantes problemas de saúde pública mundial da atualidade pelo fato de ser uma doença insidiosa, de proporção elevada para cronicidade (80% dos casos), de frequente etiologia em casos de transplante hepático, com potencial evolutivo para cirrose, hepatocarcinoma, baixa efetividade no tratamento (40-50%) e ausência de uma vacina (STRAUSS et al. 2001; LU et al., 2016). De acordo com estimativas recentes, mais de 185 milhões de pessoas em todo o mundo foram infectadas com o HCV, dos quais 350.000 morrem a cada ano, sendo relevante o número de indivíduos que desconhecem sua condição de portadores do vírus (LU et al., 2016; WHO, 2016).

A transmissão da hepatite C ocorre principalmente por via parenteral. Entretanto, é importante ressaltar que, em um percentual significativo de casos, não é possível identificar a via de infecção. São consideradas populações de risco acrescido para a infecção pelo HCV por via parenteral: indivíduos que receberam transfusão de sangue e/ou hemoderivados antes de 1993, usuários de drogas injetáveis que compartilham os equipamentos de uso, pessoas com tatuagem, piercings ou que apresentem outras formas de exposição percutânea (consultórios odontológicos, podólogos, manicures, etc., que não obedecem as normas de biossegurança). A transmissão sexual é pouco frequente - menos de 1% em parceiros estáveis - e ocorre principalmente em pessoas com múltiplos parceiros e com prática sexual de risco, sendo que a coexistência de alguma DST - inclusive o HIV - constitui-se um importante facilitador dessa transmissão. A transmissão vertical é rara quando comparada a hepatite B. Entretanto, já se demonstrou que gestantes com carga viral do HCV elevada ou co-infectadas pelo HIV apresentam maior risco de transmissão da doença para os recém-nascidos (BRASIL, 2008; LU et al., 2016).

A hepatite C é uma doença que evolui lentamente, com uma história natural dividida em duas fases distintas (AUGUSTO & LOBATO, 2004):

- Aguda - com período de incubação variando de 2 semanas a 6 meses e os pacientes, na maior parte, não apresentam sintomas clínicos ou acompanham-se de sintomas ligeiros, muitas vezes inespecíficos (astenia, anorexia e dor abdominal). Em 20% a 30% dos casos pode haver icterícia, mal estar e náusea.

- Crônica - a progressão para a fase crônica depende de alguns fatores como duração prolongada e idade avançada na época da infecção, alto consumo de álcool, infecção pelo genótipo tipo 1 ou co-infecção com hepatite B ou HIV.

A história natural precisa da hepatite C é de difícil avaliação, pela falta de dados prospectivos, dificuldade de definir a data de transmissão e associações com outros fatores que alteram o curso da doença, como co-infecções e uso de álcool. Entretanto, como apresentado na Figura 1, da infecção aguda, 15% evoluem para cura e 85% para cronicidade da doença, sendo que destes 60 a 70% permanecem estáveis, e 30 a 40% evoluem de forma progressiva para cirrose e hepatocarcinoma (RODRIGUES-LUNA & DOUGLAS, 2004).

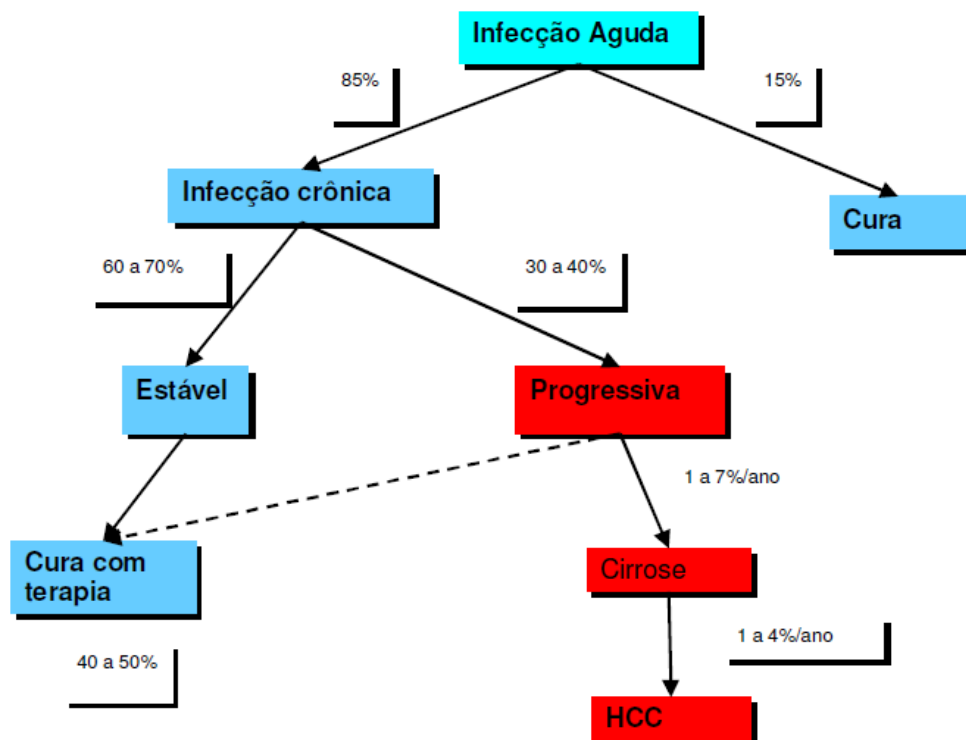


Figura 1: História Natural da Hepatite C

Fonte: Adaptado de Rodrigues-Luna & Douglas (2004).

2.1.2 Vírus da hepatite C

A hepatite C é uma inflamação causada pela infecção pelo vírus da hepatite C que pertence à família *Flaviviridae* e ao gênero *Hepacivirus*. O vírus é envelopado, de fita

simples, possuindo genoma de RNA, de polaridade positiva com cerca de 9.400 nucleotídeos (WHO, 2014) (Figura 2). O agente etiológico foi clonado em 1989 de uma cópia do DNA complementar, extraído do plasma de um chimpanzé infectado experimentalmente com sangue de um portador de hepatite não-A, não-B. A partir daí foram desenvolvidos testes sorológicos para detecção de anticorpos específicos anti-HCV. Estes testes permitiram constatar que a hepatite C era responsável por cerca de 90% dos casos de hepatite pós-transfusional (FOCACCIA, 1997).

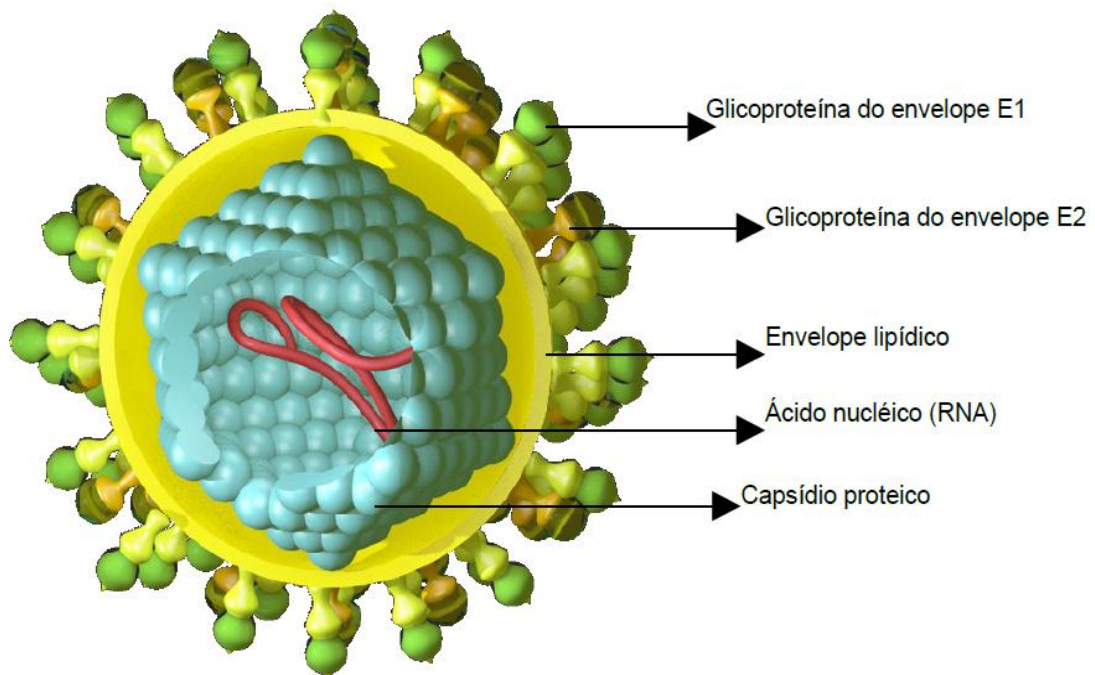


Figura 2: Estrutura do vírus da hepatite C (HCV).

Fonte: www.medars.it/galleries

O seu genoma é formado por uma cadeia simples de RNA de polaridade positiva, contém cerca de 9.600 nucleotídeos que codificam um grande polipeptídeo precursor com cerca de 3.000 aminoácidos que, pela ação das proteases virais e celulares é clivado em proteínas estruturais (core, envelope 1(E1) e envelope 2(E2)) e proteínas não estruturais (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B) (IRSHAD; MANKOTIA; IRSHAD, 2013). Na extremidade amino-terminal do genoma (extremidade 5') existe uma região não codificada de aproximadamente 324 nucleotídeos precedendo a sequência codificada. Esta região é, aparentemente, a região mais conservada do genoma viral e acredita-se que tem um papel muito importante na replicação do vírus. Na extremidade carboxi-terminal (extremidade 3') existe, igualmente, uma região não transcrita. Os genes estruturais estão situados na

extremidade 5' e codificam as proteínas que integram a partícula vírica. O gene C codifica a proteína da cápside (C). Entre as regiões estruturais e não estrutural existe uma região hipervariável E1, E2/NS1 que codifica as proteínas do invólucro, zona particularmente importante em mutações. Os genes não estruturais codificam proteínas cuja designação segue a ordem de translação de NS2 a NS5 (LYRA, 2004; IVANOV, 2013). Algumas destas proteínas constituem o sistema enzimático necessário ao crescimento e à replicação virais, e outras têm funções de ligação às células do hospedeiro, desempenhando um papel importante na persistência da infecção (MEDVEDEV; PLOEN; HILDT, 2016).

Atualmente foram identificados 11 genótipos de HCV (designados 1-11) com vários subtipos distintos (designados a, b, c, etc.) (HASSAN et al., 2015), sendo que os principais genótipos são do 1 ao 6. Os genótipos 1-3 têm uma distribuição mundial com os tipos 1a e 1b responsáveis por cerca de 60% das infecções globais. O genótipo 1a é mais comumente encontrado no norte da Europa e na América do Norte, enquanto o genótipo 1b é encontrado principalmente no sul e no leste da Europa, bem como Japão. O genótipo 3 é endêmico no Sudeste Asiático e é erraticamente distribuído em diferentes países. O genótipo 4 é encontrado em grande parte no Oriente Médio, Egito e África Central, enquanto o genótipo 5 é encontrado quase que inteiramente na África do Sul. Os genótipos 6-11 estão distribuídos por toda a Ásia (CHAYAMA et al, 2011; SBARIGIA et al., 2016).

Uma das características mais importantes do HCV é sua heterogeneidade genética, resultante da pressão imunológica gerada pelo sistema imune humoral do hospedeiro e que determina a caracterização dos diversos genótipos com diferentes subtipos, que têm associação com a severidade da hepatite e influenciam alguns aspectos relativos à infecção como distribuição geográfica, patogenia e resposta ao tratamento (MEHTA et al., 2008). O HCV ao entrar no hospedeiro suscetível, chega na corrente sanguínea, segue ao fígado por tropismo, passando por diversos tecidos em que pode infectar e se replicar (GOWANS, 2000). Sabe-se que o HCV não é apenas hepatotrópico, mas também é um vírus linfotrópico, capaz de replicar *in vivo* em linhagens de células T humanas (KOZIEL et al, 1997), já que sequências genômicas do vírus foram encontradas em populações de células B e T periféricas de pacientes com hepatite C crônica. Há evidências de que o HCV se replica no pâncreas, na tireóide, glândulas adrenais, baço e medula óssea. A infecção do HCV em sítios extra-hepáticos pode favorecer o aparecimento de variantes do mesmo e diminuir seu reconhecimento pelo sistema imune do indivíduo (GIANNINI & BRECHÓ, 2013). Após a interação do envelope do vírus com a membrana da célula do hospedeiro, o HCV entra na célula por endocitose e no citoplasma sofre

tradução do RNA mensageiro e processamento das poliproteínas; depois disso, seu RNA se replica, os novos RNA virais são empacotados e transportados até a superfície da célula hospedeira para saírem e completar novo ciclo (Figura 3) (LINDENBACH & RICE, 2005).

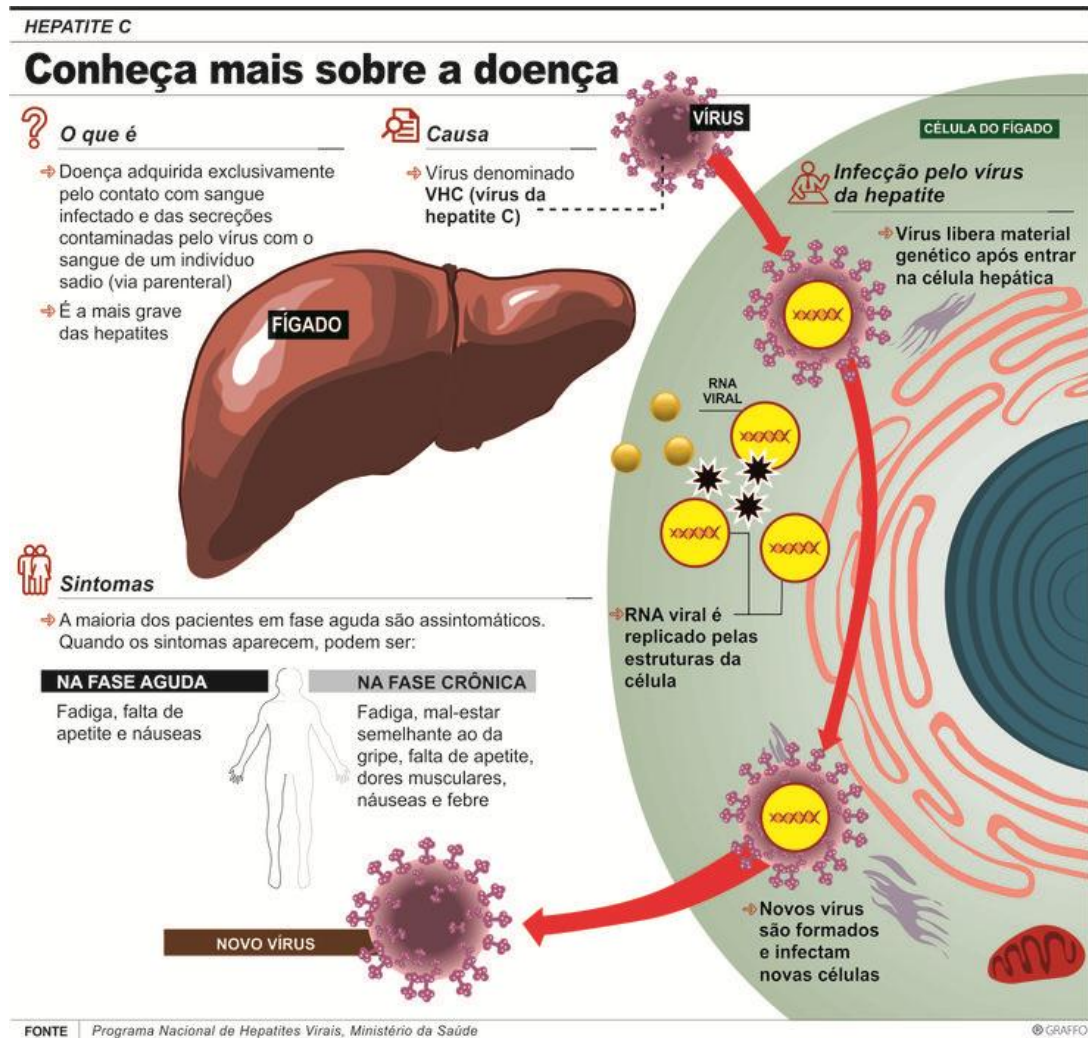


Figura 3: Mecanismo de infecção pelo vírus da hepatite C

Fonte: BRASIL, 2015.

A genotipagem é de grande importância para o manejo clínico, pois auxilia nas decisões terapêuticas. O genótipo 3 está associado à forma leve da doença, apesar de considerado citopático, tem melhor resposta à terapia antiviral, enquanto o genótipo 1 frequentemente resulta em quadros graves com progressão para cirrose ou carcinoma hepatocelular e alta resistência ao tratamento (RÉ et al., 2007; BRASIL, 2015).

Um estudo realizado no Brasil sobre a distribuição geográfica dos genótipos, mostrou que o genótipo 1 foi o mais frequentemente encontrado em todas as regiões. No Norte, foi

encontrado em 74,1% das amostras, seguido por 66,7% no Nordeste, 66,4% no Sudeste, 57,0% no Centro-Oeste e 51,7% no Sul. O genótipo 2 foi mais prevalente na região Centro-Oeste (11,4%), diminuindo no Sul (5,1%), Sudeste (4,7%), Nordeste (3,0%) e Norte (1,2%). A frequência do genótipo 3 foi maior na região Sul (43,2%) do que no Centro-Oeste (31,6%) e Nordeste (30,4%) e menor na região Sudeste (28,4%). Para a região Norte, por sua vez, a menor frequência de genótipo 3 (24,7%) não foi estatisticamente significativa. Os genótipos 4 e 5 foram raros na população estudada e todos os casos foram do Sudeste, representando 0,3% e 0,2% de todos os casos, respectivamente (CAMPIOTTO et al, 2005, BRASIL 2015).

2.2 Epidemiologia

2.2.1 No mundo

De acordo com estimativas recentes, mais de 185 milhões de pessoas em todo o mundo estão infectados pelo HCV, das quais 350.000 morrem por ano. Um terço daqueles que se tornam cronicamente infectados desenvolvem cirrose hepática ou carcinoma hepatocelular. Apesar da alta prevalência da doença, a maioria das pessoas infectadas com o vírus não tem conhecimento da sua infecção (HANAFIAH, K. M. et al, 2013; WHO, 2016).

A prevalência da hepatite C varia substancialmente em todo o mundo, sendo mais elevada na Ásia Central e Oriental e nas regiões Norte da África e Oriente Médio em vista das populações maiores na Ásia. As regiões do Sul da Ásia e do Leste Asiático têm, de longe, o maior número de pessoas vivendo com infecção por HCV (WHO, 2016). O Egito é o país com maior prevalência de HCV no mundo. Em 2008, uma pesquisa demográfica de saúde egípcia, conduzida em uma grande amostra nacional representativa, estimou que mais de 6,8 milhões de pessoas com idades entre 15 e 59 anos tinham anticorpos contra o HCV, das quais mais de 4,5 milhões tinham infecção ativa por HCV (KENDEEL et al, 2017).

Cerca de 2 a 4 milhões de pessoas podem estar cronicamente infectadas nos Estados Unidos, 5 a 10 milhões na Europa e cerca de 12 milhões na Índia, e muitos não sabem que estão infectados. Cerca de 150.000 novos casos ocorrem anualmente nos EUA e na Europa Ocidental, e cerca de 350.000 no Japão. Destes, 60 a 80% podem progredir para doença hepática crônica e 20% para cirrose. Ainda, cerca de 5% a 7% dos pacientes podem vir a

morrer das consequências da infecção (WHO, 2016). A hepatite C é um importante problema de saúde pública também na Europa, onde aproximadamente 14 milhões de pessoas são cronicamente infectadas com o HCV e 84.000 óbitos relacionados com câncer de fígado e cirrose (WHO EUROPE, 2015).

Na América Latina, estima-se que 6,8 a 8,9 milhões de adultos estão infectados pelo HCV dos quais mais de 4 milhões estão no México e no Brasil, que são os únicos países da América do Sul que realizaram pesquisas nacionais de estudos de base populacional. A prevalência global de HCV na América Latina é de 1,5%; varia de 0,1% - 0,9% em Suriname, Chile, Peru, Venezuela, Panamá e em outros países da América Latina para 1,0% - 3,4% no Brasil, México e Argentina (KERSHENOBICH D et al, 2011; LOZANO-SEPULVEDA et al., 2015).

2.2.2 No Brasil

No Brasil cerca de 2% da população são considerados portadores crônicos. No período de 1999 a 2015, foram notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) 289.459 casos confirmados de hepatite C no Brasil, sendo 64,2% foram observados no Sudeste, 24,2% no Sul, 5,6% no Nordeste, 3,2% no Centro-Oeste e 2,7% no Norte. Ao longo dos anos a taxa de detecção de casos de hepatite C reagente no Brasil tem mostrado um aumento, observando o mesmo para as regiões do país. De 2002 a 2009, a região Sudeste apresentou a maior taxa e, a partir de 2010, a região Sul passou a liderar o ranking. Em quase toda a série histórica, a região Nordeste apresentou a menor taxa de detecção. Em 2015, a taxa de detecção da região Sul foi de 14,1 casos para cada 100 mil habitantes, seguida pelo Sudeste (8,1), Norte (3,5), Centro-Oeste (1,9) e Nordeste (1,2) (Figura 4) (BRASIL, 2016).

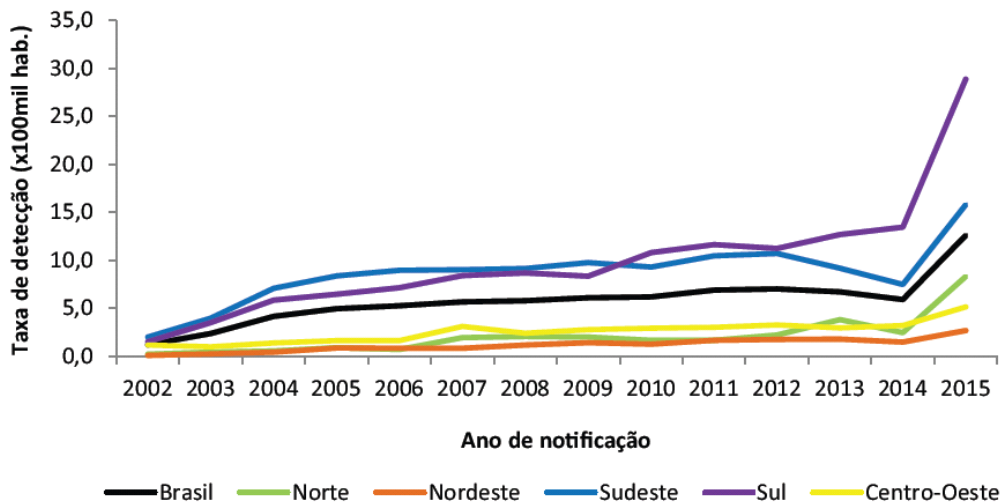


Figura 4: Taxa de detecção de hepatite C segundo região de residência e ano de notificação. Brasil, 2002 a 2015.

Fonte: BRASIL (2016).

A maior causa de morte entre as hepatites virais são pela hepatite C. O número de óbitos devido a esse agente etiológico vem aumentando ao longo dos anos no Brasil e nas regiões. De 2000 a 2014 foram identificados, no Brasil, pelo Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM), 56.335 óbitos associados às hepatites virais dos tipos A, B, C e D. Destes, 1,8% foram associados à hepatite viral A; 21,9% à hepatite B; 75,2% à hepatite C e 1,1% à hepatite D (Figura 5) (BRASIL, 2016).

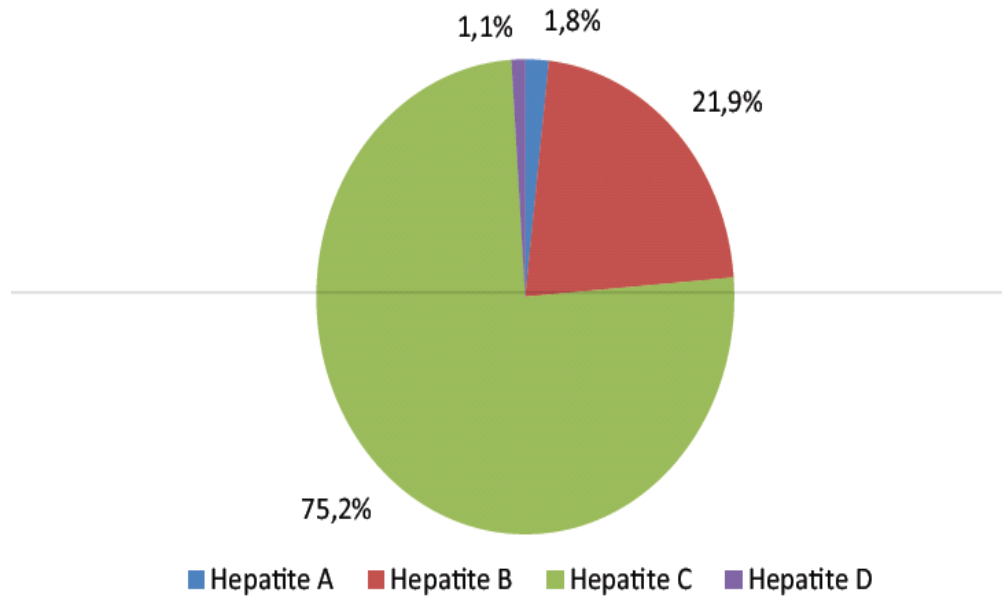


Figura 5: Distribuição dos óbitos associados às hepatites virais segundo agente etiológico. Brasil, 2000 a 2014.

FONTE: BRASIL (2016).

Quanto à provável fonte ou mecanismo de infecção, vale destacar que existe um percentual significativo de casos em que não se conhece a forma de transmissão. Apesar disso, nos casos em que esse dado é conhecido, a maioria verifica-se entre os dependentes químicos, seguidos daqueles que receberam transfusão sanguínea e dos que tiveram relação sexual desprotegida. Em 2015, o percentual de usuários de drogas infectados foi de 26,7%, e o percentual de indivíduos que se infectaram por via sexual foi maior que o de transfundidos, 25,0% e 19,5%, respectivamente (Figura 6) (BRASIL, 2016).

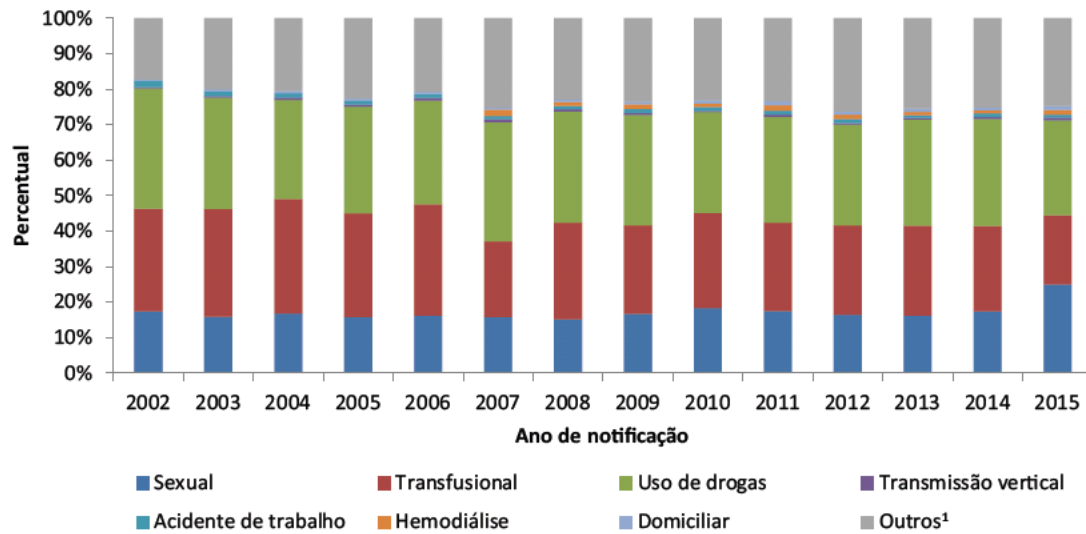


Figura 6: Proporção de casos de hepatite C segundo provável fonte ou mecanismo de infecção e ano de notificação. Brasil, 2002 a 2015.

Nota: (1) Outros = tratamento cirúrgico + tratamento dentário + pessoa/pessoa + outras formas.

FONTE: BRASIL (2016)

2.2.3 No Município de Uruguaiana

Uruguaiana é um município brasileiro situado no extremo ocidental do estado do Rio Grande do Sul, junto à fronteira fluvial com a Argentina e Uruguai. Pertence à Microrregião da Campanha Ocidental, na Mesorregião do Sudoeste Rio-Grandense (www.uruguaiana.rs.gov.br, acessado em junho/2017) Um panorama da infecção por hepatite C, entre 2007 e 2015 no município de Uruguaiana, RS. Os dados foram obtidos a partir de levantamento bibliográfico e consulta à Secretaria de Vigilância Epidemiológica do município. Neste período, 30.678 casos foram notificados no Estado do Rio Grande do Sul e 341 casos em Uruguaiana. A faixa etária mais acometida pela infecção foi de 40 a 59 anos, como apresentado na Figura 7.

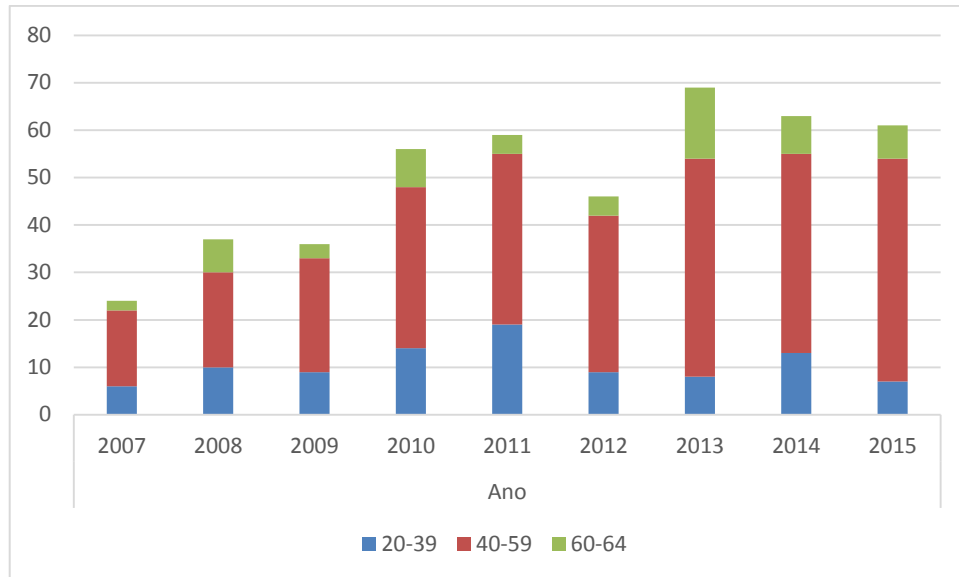


Figura 7: Casos de hepatite viral C notificados no município de Uruguaiana-RS de 2007 a 2015.

Fonte: o autor.

2.3 Diagnóstico da Hepatite C

A hepatite crônica é assintomática na grande maioria dos casos, o que torna seu diagnóstico muito difícil. Infelizmente, as manifestações clínicas só aparecem quando já há um alto grau de comprometimento hepático. Na maioria das vezes, o diagnóstico precoce ocorre nos hemocentros, a partir da triagem em doadores de sangue ou na população que realiza exames de rotina regularmente (CONSENSO SOBRE CONDUTAS NAS HEPATITES VIRAIS B e C, 2002; CHAYAMA et al., 2011).

O diagnóstico da hepatite C pode ser realizado na sequência de manifestações clínicas, mas, na maioria das vezes, é feito de forma esporádica, no decurso da investigação de alterações das transaminases ou de um programa de rastreamento. O diagnóstico da hepatite C baseia-se na identificação do vírus ou dos seus anticorpos. No seguimento clínico dos portadores da hepatite C utilizam-se dois tipos de testes virológicos: testes sorológicos e testes de biologia molecular (CHAYAMA et al., 2011).

A definição do agente é feita pelo marcador sorológico anti-HCV, o qual é recomendado como teste inicial para pacientes que apresentam sintomas e/ou sinais clínicos sugestivos de doença hepática. Indica contato prévio com o vírus da hepatite C, mas não

define se recente ou tardio. O diagnóstico de infecção aguda só pode ser feito com a viragem sorológica documentada. A infecção crônica deve ser confirmada pela pesquisa qualitativa de HCV-RNA (BRASIL, 2011).

Os testes sorológicos identificam anticorpos específicos contra o HCV. Esses anticorpos já podem ser detectados em amostras entre 20 e 150 dias após a infecção (BRASIL, 2008). Entre os testes sorológicos destacam-se o Enzima Imunoensaio (ELISA), de alta sensibilidade e usado no rastreamento da infecção pelo HCV, e o Ensaio Imunoblot Recombinante, de maior especificidade, e por isso denominado como um teste suplementar (BRANDÃO et al., 2001). O ELISA de terceira geração (ELISA III) utiliza antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos para a captura de anticorpos contra o HCV, aumentando, assim, a sensibilidade do teste e reduzindo o tempo médio de soroconversão, ou seja, o intervalo de tempo compreendido entre a infecção e o aparecimento dos anticorpos (GRETCH, 1997). O Ensaio Imunoblot Recombinante é um teste mais específico porque detecta anticorpos contra antígenos individuais do HCV (LOK & GUNARATNAM, 1997; BRANDÃO et al., 2001).

Os testes de biologia molecular possibilitam a detecção do RNA do HCV, que já pode ser identificado em amostras entre 7 e 21 dias após a infecção (BRASIL, 2008). A reação em cadeia da polimerase é um teste que possibilita a detecção qualitativa e quantitativa do RNA do HCV, esta última também conhecida como carga viral. A determinação do genótipo do HCV pode ser realizada a partir de técnicas de biologia molecular ou sorológicas (BRANDÃO et al., 2001). A genotipagem do HCV por técnicas de biologia molecular tem como principais vantagens a informação direta da sequência dos nucleotídeos do genoma viral, a alta sensibilidade, por se basearem na PCR e a possibilidade de identificar o subtipo do HCV. Já as técnicas sorológicas têm baixo custo e maior facilidade de execução (BRANDÃO et al., 2001; PAWLOTSKY & GRETCH, 1998).

2.4 Tratamento

No Brasil, o Ministério da Saúde (MS) distribui, desde 1999, combinações de medicamentos através das Secretarias de Saúde Estaduais, envolvendo um significativo consumo de recursos para o Sistema Único de Saúde (SUS). Em 26 de junho de 2000, foi publicado o primeiro protocolo nacional traçando as diretrizes para o tratamento da hepatite C

crônica no Brasil (BRASIL, 2000). A portaria nº 34 da SVS/MS, de 28 de setembro de 2007, garante à população o direito a este tratamento e especifica indicações de uso dos diferentes esquemas, critérios de inclusão e exclusão para o tratamento, dosagem e posologia, duração do tratamento, monitoramento da terapêutica, além de critérios de interrupção (BRASIL, 2007).

O tratamento da infecção pelo HCV tem como objetivo eliminar o vírus, tornando indetectável o RNA do HCV no soro dos pacientes, reduzir o risco de morbidade e mortalidade associado à infecção crônica, objetivando a erradicação do vírus. Isto significa obter uma resposta virológica sustentada (RVS) ou (ausência de detecção de RNA HCV no soro utilizando-se ensaio com sensibilidade de pelo menos 100 cópias (50 UI) por mililitro) deve ser alcançado ao final do tratamento e 6 meses após a descontinuação da terapia (GRETCH, et. al., 1993; NIH, 2002; BRASIL, 2007).

O interferon alfa foi o primeiro medicamento a demonstrar atividade contra o HCV no começo da década de 1990 (PETERS, 1989; MEDEIROS-FILHO et al., 2000). O interferon alfa é uma citocina que compõe a resposta inata do hospedeiro humano e sua utilização alcançava taxas muito baixas de RVS. Posteriormente foram desenvolvidos os interferons alfa peguilados (PEG-INF), cuja adição de uma molécula de polietilenoglicol ao interferon alfa prolonga a ação, eleva a velocidade de absorção, aumenta a meia-vida e reduz o *clearance* do interferon, melhorando seu perfil farmacocinético e sua eficácia e minimizando os efeitos adversos muito comuns, com possíveis ganhos na aderência ao tratamento. Em meados da década de 1990, descobriu-se que a ribavirina, um análogo da guanósina, administrada diariamente por via oral, aumentava as taxas de resposta terapêutica sustentadas nos pacientes que passaram a utilizar a terapia combinada (MANNING et al., 2001; MCHUTCHISON & PATEL, 2001; BRASIL, 2011).

O tratamento das formas crônicas baseia-se na combinação de interferon alfa peguilado com a ribavirina, um análogo de guanósina que interrompe o metabolismo de RNA viral. O período de tratamento de 24 ou 48 semanas depende do genótipo encontrado, obtendo-se um *clearance* em torno de 80% para os genótipos virais 2 e 3 (24 semanas de tratamento) e cerca de 40% para o genótipo 1 (48 semanas de tratamento). Ao longo do terapia combinada, o portador realiza exames hematológicos, bioquímicos e quantificam a carga viral para o monitoramento das lesões no fígado (GHANY, 2009; GOWER et al., 2014). É essencial que o portador de hepatite C crônica compreenda os objetivos do tratamento e seus eventos adversos, recebendo auxílio da equipe multiprofissional, que deve

propiciar vínculo, responsabilização conjunta e suporte para evitar o abandono do tratamento (BRASIL, 2011; GOWER et al., 2014).

Entretanto, o uso crônico do interferon alfa combinado e da ribavirina pode trazer efeitos adversos ao portador da hepatite C, entre os quais destaca-se: mielossupressão, neutropenia, plaquetopenia e anemia, alterações gastrointestinais, dermatológicas, cardiovasculares, pulmonares, renais, entre outras. Por isso, exames laboratoriais de rotina que avaliem a função de cada órgão ou sistema são importantes no monitoramento e avaliação da progressão da doença (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007; JAESCHKE, 2011).

2.5 Inflamação no Fígado e a Resposta Imune ao HCV

Uma das notáveis características do vírus da hepatite C é a habilidade de evadir do sistema imune do hospedeiro infectado. A viremia persiste em 85% - 90% dos indivíduos infectados e, aproximadamente, 70% dos quais desenvolvem algum grau de lesão hepática crônica (WANG et al., 2002; TARDIFF et al., 2005; WARIS & AHSAN, 2006). Também há potencial para progredir para cirrose e carcinoma hepatocelular, com presença de grande atividade inflamatória que tem relação direta com essas graves consequências (CONTE, 2000b; MARTÍNEZ-ESPARZA et al., 2015).

Estudo publicado recentemente mostrou que a infecção crônica pelo HCV pode estar associada com desequilíbrio de citocinas inflamatórias e, estas desempenham um papel importante na eficácia do tratamento farmacológico. A análise da expressão de citocinas inflamatórias durante a infecção pelo HCV pode auxiliar na elucidação dos mecanismos de interações hospedeiro-HCV e identificar os preditores do tratamento combinado do interferon alfa peguilado com a ribavirina (BELTRA & DECALUWE, 2016; LU et al., 2016).

A resposta imune ao HCV tem início logo após a infecção. Ao entrar na corrente sanguínea o HCV pode infectar várias células e se replicar dentro delas enquanto migra para o fígado, seu órgão alvo (GOWANS, 2000). São essas células infectadas que constituem a primeira linha de defesa contra o vírus. O reconhecimento dos padrões moleculares associados a patógenos do HCV na superfície das células induz a produção de interferons (IFN) tipo I (IFN-alfa e IFN-beta), responsáveis pela inibição da replicação viral na célula recém infectada e pela indução do estado antiviral em células vizinhas. Este mecanismo limita a disseminação do HCV (TAYLOR et al., 2006; MIZUKOSHI & REHERMANN, 2001).

Os IFN do tipo I também ativam células *natural killer* (NK) (TAYLOR et al., 2006), que contribuem com esse controle inicial da replicação viral, eliminando as células infectadas. As células NK também são uma importante fonte de IFN-gama, que entre outras funções atua em macrófagos, potencializando seus efeitos microbicidas e em linfócitos T contribuindo para a sua ativação (REHERMANN, 2000).

A literatura tem mostrado que pacientes que durante a fase aguda da hepatite C apresentam uma resposta vigorosa e sustentada de linfócitos T CD4 e CD8 contra múltiplos epítomos do HCV, em geral conseguem fazer uma eliminação viral eficiente e controlar a infecção (THIMME et al., 2001; URBANI et al., 2006). Em contrapartida, a fase crônica da hepatite C é caracterizada por uma resposta atenuada de linfócitos T contra o vírus (WEDEMEYER et al., 2002).

Os motivos que levam a essa falha na reatividade dos linfócitos T durante a hepatite C crônica ainda não são compreendidos, mas, provavelmente, fatores tanto relacionados ao hospedeiro quanto ao vírus podem contribuir com isso. A estimulação constante das células de defesa pode levar a exaustão ou deleção dos linfócitos T. Células com perfil imunomodulatório, como os linfócitos Treg também podem estar envolvidos na manutenção da infecção crônica. Pacientes com hepatite C crônica têm uma frequência maior de linfócitos T CD4+CD25+ que suprimem a resposta proliferativa de linfócitos T específicos para o HCV (CABRERA et al., 2004). Determinados polimorfismos no complexo principal de histocompatibilidade e em genes de citocinas podem favorecer a eliminação ou persistência do vírus (HARUNA et al., 2000; MANGIA et al., 1999).

Segundo Bella et al (2007), células dendríticas de pacientes com hepatite C crônica apresentam alterações em suas funções que não são observadas em pacientes que conseguem controlar a infecção. As células dendríticas são células apresentadoras de antígenos que têm papel crucial na ativação e diferenciação dos linfócitos T *naïves*. Mutações nos epítomos alvo do sistema imune também são estratégias utilizadas pelo HCV para se evadir da resposta imune do hospedeiro (IWATA et al., 1995; GUAN et al., 2012; FOFANA et al., 2012).

2.6 As Citocinas na Hepatite C

As citocinas são polipeptídeos ou glicoproteínas extracelulares, hidrossolúveis, variando ente 8 a 30 kDa. São produzidas por diversos tipos de células no local da lesão e por

células do sistema imunológico através da ativação de proteinoquinas ativadas por mitógenos. Diferente dos hormônios clássicos, as citocinas não são armazenadas como moléculas preformadas e atuam especialmente por mecanismos parácrino (em células vizinhas) e autócrino (nas próprias células produtoras). Diferentes tipos de células secretam a mesma citocina, e uma única citocina pode agir em diversos tipos de células, fenômeno denominado pleitropia. As citocinas são redundantes em suas atividades, ou seja, ações semelhantes podem ser desencadeadas por diferentes citocinas. Com frequência, são formadas em cascata, ou seja, uma citocina estimula suas célula-alvo a produzir mais citocinas. Essas substâncias se ligam a receptores específicos, ativando mensageiros intracelulares que regulam a transcrição gênica. Dessa forma, as citocinas influenciam a atividade, a diferenciação, a proliferação e a sobrevivência da célula imunológica, assim como regulam a produção e a atividade de outras citocinas, que podem aumentar ou atenuar a resposta imunológica. Algumas citocinas podem ter ações pró-inflamatória ou antiinflamatórias, de acordo com o microambiente no qual estão localizadas. Dentre as consideradas pró-inflamatórias, tem-se a interleucina 1 (IL-1), a interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8) e o Fator de Necrose tumoral alfa (TNF- α) (FAN et al., 1998; OLIVEIRA et al., 2001).

As citocinas são importantes mediadores da resposta imune. Em pacientes com hepatite C crônica, os níveis séricos de citocinas estão elevados quando comparados a indivíduos saudáveis, sugerindo que as respostas mediadas pelos linfócitos T estão ativadas nesses pacientes (CACCIARELLI et al., 1996; FAN et al., 1998). Estudos mostram que um desequilíbrio na produção de citocinas tem sido observado em várias doenças infecciosas humanas, como na infecção pelo HIV, vírus da hepatite B, leptospirose e leishmaniose (CLEIRICI & SHEARER, 1994; JIANG et al., 2000, YAMAMURA et al., 1991; SHER & COFFMAN, 1992). A resposta imune mediada por células, favorecida pelas citocinas relacionadas ao perfil Th1, tem sido associada ao controle de várias doenças, enquanto que as citocinas relacionadas ao perfil Th2 exercem funções imuno-regulatórias negativas (TSAI et al., 1997).

Na hepatite C, as citocinas produzidas pelos linfócitos T são importantes para o controle da replicação viral, mas também podem contribuir com a progressão do dano hepático (KOZIEL, 1997; TSAI et al., 1997). Assim, ainda não está claro qual perfil de citocinas está associado à gravidade das lesões hepáticas (BROWN & NEUMAN, 2001). A grande variação das condições clínicas dos pacientes, as diversas metodologias empregadas para análise das citocinas (citometria de fluxo, ELISA) e os tipos de amostras (soro, sobrenadante de culturas, fragmentos de tecido hepático) dificultam a comparação dos

resultados dos estudos e o entendimento de como as citocinas contribuem com o agravamento das lesões hepáticas observadas na hepatite C crônica (VISO et al., 2010).

2.6.1 Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α)

O Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α) é uma citocina pró-inflamatória com importante papel nas respostas aguda e crônica às infecções virais, bacterianas, fúngicas e parasitárias (BRADLEY, 2008). É produzido principalmente por macrófagos ativados durante a reação inflamatória que se segue ao reconhecimento de antígenos virais, mas o estímulo exato para sua produção aumentada na infecção pelo HCV ainda não foi claramente definido (RADKOWSKI et al., 2004).

O TNF- α atua no recrutamento de neutrófilos para o sítio da infecção e em macrófagos e células endoteliais, age estimulando a secreção de interleucina-1-beta (IL-1- β) e quimiocinas, que atraem outros leucócitos. Neuman et al (2012), Hung et al (2009) e Cua et al (2007), afirmaram em seus estudos que os níveis séricos de TNF- α refletiam a progressão da inflamação hepática. Crespo et al (2002), entretanto, não observaram isso. Segundo Volp et al (2008), o TNF- α também age sobre o tecido adiposo estimulando a lipólise, ou seja, a quebra das moléculas de gordura para a produção de energia. Isso ocorre porque o TNF- α estimula a atividade da enzima lipase hormônio sensível a qual é sensível a ação de hormônios, como a insulina, que inibe sua ação (VOLP et al, 2008). O TNF- α também inibe a atividade da enzima lipase lipoprotéica, responsável pela remoção dos lipídeos da circulação e acúmulo destes nos adipócitos. Esses dois efeitos combinados resultam em um aumento dos níveis séricos de triglicerídeos (FEINGOLD & GRUNFELD, 1992; MENDALL et al., 1997). Ziccardi et al (2002), Mendall et al (1997) e Yudkin et al (1999), observaram níveis séricos elevados de TNF em indivíduos obesos. Segundo Cua et al (2007) e Crespo et al (2002), entretanto, os níveis séricos de TNF não estão associados à esteatose hepática, caracterizada pelo aumento do conteúdo de gordura dentro dos hepatócitos, embora a esteatose hepática esteja associada à um estado pró-inflamatório em pacientes com hepatite C crônica (JOSSON et al., 2008).

Os níveis séricos de TNF- α correlacionam-se bem com seu padrão imunohistoquímico hepático, sugerindo que os níveis periféricos dessa citocina possam ser usados como marcadores indiretos da sua expressão local, em pacientes com hepatite C crônica (NEUMAN

et al., 2007). Níveis séricos de TNF- α estão significativamente mais elevados entre pacientes com hepatite C crônica, se comparados a voluntários sadios (NEUMAN et al., 2002), e estão positivamente associados aos valores de aminotransferases (HASSAN et al., 2007) e à intensidade de inflamação e fibrose hepática (TILG; VOGEL DINARELLO, 1995). Mesmo pacientes com inflamação hepática leve apresentam níveis elevados de TNF- α séricos, sugerindo que essa citocina pode ser utilizada como marcador sensível de inflamação hepática (NEUMAN et al., 2002c). Níveis séricos elevados de TNF- α também estiveram associados à esteatose hepática, possivelmente devido à sua correlação inversa com níveis de adiponectina, um importante regulador do conteúdo lipídico hepático (DURANTE-MANGONI et al., 2006).

2.6.2 Interleucina-1 (IL-1)

A interleucina 1 (IL-1) é primariamente produzida por macrófagos e monócitos, assim como por células não imunológicas, tais como fibroblastos e células endoteliais ativadas durante lesão celular, infecção, invasão e inflamação. Ha dois tipos conhecidos: IL-1 α e IL-1 β , com 31 a 33 kDa cada. Estas atuam sobre os mesmos receptores, IL-1RI e IL-1RII. O IL-1RI é considerado o receptor ativo, enquanto o IL-1RII não possui uma molécula de transdução e é funcionalmente inativo (OLIVEIRA et al, 2011; MAGNONI, 2014).

A IL-1 α é marcadamente associada a membranas celulares e age através de contatos celulares. Já a IL-1 β é sintetizada como uma proteína precursora (Pro-IL-1 β), que não é secretada na forma ativa até ser metabolizada pela enzima caspase-1. Recentemente, descobriu-se que IL-1 β é expressa em neurônios nociceptivos do gânglio da raiz dorsal. A IL-1 β produz inflamação sistêmica através da ativação da ciclooxigenase-2, com a formação de PGE2 no hipotálamo anterior, causando febre. Também produz substância-P, óxido nítrico e moléculas de adesão endotelial. Tem importante função no desenvolvimento e na manutenção da dor pós-operatória. A IL-1AR (antagonista de receptor) também é liberada durante lesão tecidual e não tem efeito agonista tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Assim, ela compete com os mesmos receptores da IL-1, atuando como um autorregulador endógeno. Embora tenha meia-vida plasmática de apenas 6 minutos, recentemente tem-se sugerido que a IL-1 tem importante função no desenvolvimento e na manutenção da dor pós-operatória (OLIVEIRA et al, 2011).

A IL-1- β é produzida principalmente por macrófagos e células endoteliais e age de forma semelhante ao TNF, estimulando a expressão de moléculas de adesão e facilitando assim a migração de leucócitos para o sítio da infecção. A IL-1- β também reduz a atividade da lipase lipoprotéica no tecido adiposo, contribuindo com o aumento dos níveis séricos de triglicérides (FEINGOLD & GRUNFELD, 1992). A IL-1- β , juntamente com o TNF (fator de necrose tumoral), estimulam a produção de IL-6 em macrófagos e células endoteliais (OLIVEIRA et al, 2011).

2.6.3 Interleucina 6 (IL-6)

A IL-6 é uma glicoproteína de 22 a 27 kDa, secretada por diversos tipos celulares, sendo o TNF- α e IL-1 potentes indutores. É uma citocina pró-inflamatória que promove maturação e ativação de neutrófilos, maturação de macrófagos e diferenciação/manutenção de linfócitos - T citotóxicos e NK. Além disso, ativa astrócitos e micróglia, e regula a expressão de neuropeptídeos após lesão neuronal, contribuindo para sua regeneração. Contudo, também exerce propriedades antiinflamatórias durante a lesão (FISCHER, 2016).

A IL-6 é o principal mediador da resposta inflamatória de fase aguda. Atua no fígado, estimulando a produção da proteína C reativa (PCR), que possui funções imuno-regulatórias, estimulando a ativação do sistema complemento, a reatividade dos leucócitos e a síntese de citocinas (OLIVEIRA et al, 2011). Estudos desenvolvidos por Malaguarnera et al (1997) e Gonzáles-Reimers et al (2009), observaram que os níveis séricos de IL-6 estavam elevados em pacientes com hepatite C crônica e se correlacionavam com o grau de atividade necroinflamatória. Cua e colaboradores (2007) porém, não observaram essa associação.

Com relação à estudos clínicos, Lu et al (2015), observaram um aumento nos níveis séricos de IL-6 tanto no grupo respondedor quanto no grupo não respondedores ao tratamento antiviral. O tecido adiposo também é uma importante fonte de IL-6, existindo uma correlação direta dessa citocina com a massa adiposa (VOLP et al., 2008). Jossen et al (2008) e Baranova et al (2011), relataram que os níveis séricos de IL-6 estão associados à obesidade e à esteatose hepática em pacientes com hepatite C. Cua et al (2007) entretanto, não observaram essa associação.

2.6.4 Interleucina-8 (IL-8)

A IL-8 é produzida principalmente por macrófagos e em menor quantidade por células endoteliais. Seus indutores normalmente são a IL-1, TNF- α e IFN-gama. Também conhecida como CXCL8, a IL-8 é uma quimiocina. As quimiocinas são citocinas que funcionam como quimioatraentes para outras células, estimulando a migração para o sítio da infecção (OLIVEIRA et al, 2011).

A principal ação da IL-8 é o grande estímulo migratório para as células do sistema imune, principalmente neutrófilos, determinando ainda, um aumento na expressão de moléculas de adesão por células endoteliais. Também ativa polimorfonucleares neutrofílicos, aumentando o metabolismo oxidativo (VISO et al, 2010).

Baranova et al (2011) e Neuman et al (2007), também observaram níveis séricos elevados de IL-8 em pacientes com hepatite C e fibrose moderada e grave, e afirmaram que os níveis séricos de IL-8 em pacientes com hepatite C crônica continuavam aumentando, mesmo naqueles com cirrose hepática. Neuman et al (2007), relataram níveis séricos elevados de IL-8 em pacientes com atividade necroinflamatória intensa. Baranova et al (2011), afirmaram que os níveis séricos de IL-8 estão associados à esteatose hepática em pacientes com hepatite C crônica.

Altos níveis de IL-8 séricos estão associados com a severidade da fibrose hepática. Pacientes com estágios mais severos de fibrose (F2 a F4) tem níveis significativamente mais elevados dessa quimiocina do que pacientes com grau mais leve de fibrose (F0/F1). Estes dados estão em concordância com a alta expressão de mRNA CXCL8 dentro do fígado de infectado pelo HCV (WASMUTH et al., 2010; KANG; SHIN, 2011).

2.7 Adiponectina

A adiponectina, também conhecida como proteína complementar relacionada com o adipócito (Acrp 30) é o mais abundante fator produzido exclusivamente pelo tecido adiposo de humanos, macacos e ratos, e está envolvida na resposta inflamatória e regulação do balanço energético, desenvolvendo um papel anorexígeno e antiinflamatório. Essa adipocina também aumenta a sensibilidade à insulina e inibe a inflamação vascular (ARITA et al, 1999).

Descrita como uma proteína do tecido adiposo em 1995, a descoberta da adiponectina é atribuída a Maeda et al. (1996), que clonaram o ácido desoxirribonucléico (DNA) dessa citocina. Estruturalmente, a adiponectina é homóloga ao TNF- α , é uma proteína de 247 aminoácidos (30KDa) e possui três domínios, incluindo um domínio globular, um sinal de sequência e um domínio colágeno-like. Três desses domínios de colágeno assumem uma forma de hélice tripla estável e outros dois domínios formam um “buquê”. Na circulação, a adiponectina existe em duas formas, como um hexômero de baixo peso molecular ou como um hexômero de alto peso molecular. A forma de alto peso molecular é a mais abundante parte intracelular da molécula, enquanto que, a parte predominante na circulação é a de baixo peso molecular (GUIMARÃES et al, 2007).

A adiponectina possui ações específicas em cada tecido e tais diferenças parecem ser mediadas pela isoforma da molécula, bem como pelo receptor ao qual ela se ligará. Ainda existem divergências sobre a ação específica e a forma dessa proteína. Waki et al. (2003) demonstraram que a isoforma pesada ativa a AMPK no hepatócito, enquanto que Tsao et al. (2003) reportaram esse efeito apenas no músculo e efetuado pela isoforma de hélice, enquanto que a forma pesada seria responsável pela ativação de outras estruturas não específicas. Em 2003 foram clonados os receptores da adiponectina (AdipoR1 e AdipoR2); a partir desse fato, as vias de ação intracelular dessa adipocina começaram a se tornar mais elucidadas. Esses dois tipos de receptores, da grande família da proteína G, são encontrados no músculo esquelético, fígado e cérebro, células β -pancreáticas, macrófagos e lesões ateroscleróticas. Vários estudos têm investigado a associação entre os níveis de adiponectina e de marcadores inflamatórios em diferentes populações. A resposta anti-inflamatória da adiponectina parece ser mediada pelas concentrações de outras citocinas pró-inflamatórias, mais especificamente a IL-6, o TNF- α e a PCR. Neumeier et al. (2006) relataram que a adiponectina possui efeitos ambíguos, isso porque o alto peso molecular pode exercer efeito pró-inflamatório por induzir a síntese de IL-6, mas o baixo peso molecular atenua a síntese de IL-6 e potencializa a síntese de IL-1RA, favorecendo a ação antiinflamatória.

A adiponectina e TNF- α se inibem mutuamente; a expressão de PCR é negativamente controlada pela adiponectina; a expressão de adiponectina é suprimida pela IL-6; adiponectina inibe a indução de monócitos, expressão de moléculas de adesão endoteliais e transformação de macrófagos em macrófagos ativos (células esponjosas); reduz a expressão de TNF- α em macrófagos e a proliferação de células musculares lisas; diminui a expressão da molécula de adesão da célula vascular 1 via fator nuclear kappa B (OUCHI et al, 2003).

2.8 Proteínas de Fase Aguda

A reação de fase aguda é constituída por uma cascata complexa de alterações fisiológicas e metabólicas que se inicia imediatamente após uma injúria tecidual, decorrente de uma infecção, reação alérgica ou imunológica, trauma mecânico ou térmico, neoplasia, isquemia ou procedimento cirúrgico. A resposta inflamatória ocorre com o intuito de promover proteção aos tecidos, restringindo os danos no local da infecção/injúria ou podendo ter efeitos deletérios quando ocorrer de forma exacerbada. As proteínas de fase aguda são definidas como proteínas de produção hepática que aumentam ou diminuem a sua concentração após o dano tecidual e sua produção está sob a regulação de um grande número de citocinas: Interleucinas (IL-6 e IL-1) e TNF- α . O dano tecidual ou endotelial promove uma resposta local, desencadeando vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, com extravasamento de leucócitos para os sítios inflamados (inicialmente neutrófilos e em fases mais tardias monócitos e linfócitos) (MACIEL, 2015).

Em alguns casos, o processo inflamatório agudo não é completamente resolvido, levando à inflamação crônica, como é o caso de doenças auto-imunes ou infecções causadas por micro-organismos que conseguem evadir da resposta imune, como o HCV. Esse tipo de inflamação acontece quando macrófagos e células T são constantemente ativados, levando ao seu acúmulo nos sítios da lesão e significativo dano tecidual. As citocinas liberadas pelos macrófagos cronicamente ativados, estimulam a proliferação de fibroblastos, levando ao aumento da produção de colágeno que culmina na fibrose, característica das inflamações crônicas (MACIEL, 2015).

2.8.1 Proteína C-Reativa ultrasensível (PCRus)

É uma proteína de fase aguda produzida pelo fígado. Os níveis séricos da PCRus começam a aumentar entre 4 e 10 horas após o início da inflamação (estímulo), atingem valores de pico de até 1.000 vezes sua concentração inicial em aproximadamente 48 horas e, como sua meia-vida é de 4 a 9 horas, retornam rapidamente a valores basais após a melhora do processo. A concentração sérica da PCRus é determinada pela sua taxa de síntese, já que a taxa de degradação não é influenciada pelas diversas patologias. É produzida principalmente

no fígado, mesmo local onde é degradada em sua maior parte. Produção extra-hepática em linfócitos, placas ateroscleróticas e neurônios também já é relatada (DU CLOS, 2002).

O gene que codifica a síntese da PCRus está localizado no braço longo do cromossomo 1 e sua transcrição é regulada por citocinas produzidas por monócitos, macrófagos e fibroblastos ativados. O principal fator de estímulo para a produção da PCRus é a IL-6. O TNF- α e a IL-1 β , entre outros, atuam sinergicamente com a IL-6, exacerbando esse estímulo (MAAT & KLUFT, 2001; DU CLOS, 2002).

A PCRus é constituída de cinco subunidades idênticas (protômeros), ligadas de forma não-covalente em um arranjo simétrico ao redor de um poro central, formato que lembra uma rosca. Cada protômero é composto de 206 aminoácidos em cadeia simples, com peso molecular de cerca de 23.000 Da. É uma proteína da família das pentraxinas, que apresenta estrutura muito conservada durante a evolução filogenética e, além disso, mostra pouco polimorfismo entre as espécies. Até há poucos anos, a PCRus era tida como um bom marcador de resposta aguda, mas sem função conhecida. Atualmente, é reconhecida sua participação na defesa em infecções por diversos micro-organismos, na reabsorção de material necrótico e na regulação de processos inflamatórios (SZALAI, 2002).

A interação da PCRus com macrófagos e/ou monócitos induz atividade tumoricida, secreção de IL-1 e TNF, estimulando a resposta inflamatória. Por outro lado, a PCRus parece diminuir a atividade dos neutrófilos, pois, ao ser degradada por enzimas lisossomais, suprime a produção de superóxido e inibe sua degranulação e ações de quimiotaxia, adesão ao endotélio, migração e fagocitose. Assim, a PCRus parece influenciar diretamente na regulação da reação inflamatória, apresentando atividade pró e antiinflamatória e contribuindo para a resolução desse processo (KUSHNER, 1990; BELTRA e DECALUWE, 2016).

2.8.2 Proteína Amilóide Sérica A (SAA)

A proteína amiloide sérica A (SAA) é produzida no fígado, tem funções de defesa (atuando na quimiotaxia de neutrófilos, monócitos e linfócitos T), catalisa a atividade da fosfolipase A2 secretória, facilitando a ação da PCR. Também tem função reparadora tecidual, induzindo a formação metaloproteínas, colagenase e estromelisina. Como a PCR, também atua na opsonização de células apoptóticas, ligando-se especificamente fosfatidiletanolamina e ativando a via clássica do complemento. As principais citocinas

envolvidas na indução da SAA aguda são a IL-1, o TNF- α e a IL-6. É o marcador mais sensível da inflamação aguda (MACIEL, 2015).

A proteína amilóide sérica A também está envolvida no transporte e metabolismo do colesterol, inibição da agregação plaquetária, adesão, migração de células inflamatórias e ativação de neutrófilos. Além disso, já foi demonstrado que essa proteína possui atividade contra o HCV, uma vez que ela consegue inibir a replicação viral e a penetração do vírus para o interior da célula. É sintetizada no fígado e regulada por citocinas produzidas por células endoteliais, linfócitos, monócitos e macrófagos (PIOTTI et al, 2016).

2.8.3 Fibrinogênio

O fibrinogênio, outra proteína de fase aguda, é uma das proteínas predominantes no plasma que desempenha papel fundamental na hemostasia, sendo um dos componentes que mais afeta a velocidade de hemossedimentação. Nas reações inflamatórias, tem provável papel no reparo tecidual e cicatrização. O fibrinogênio é uma glicoproteína sintetizada no fígado, pelos hepatócitos, através do estímulo do TNF- α , tem meia-vida de três a cinco dias e é precursora do coágulo de fibrina. Uma vez formada a fibrina, estimula a adesão, a dispersão e a proliferação de células endoteliais. Valores aumentados de fibrinogênio ocorrem em processos inflamatórios agudos ou crônicos (MOURA, 2008; MACIEL, 2015).

A medição de diversas proteínas de fase aguda, especialmente a proteína C reativa, TNF- α , interleucinas, fibrinogênio e proteína amilóide sérica A são marcadores muito úteis para inflamação na patologia clínica médica. Elas podem indicar também falência hepática, dado extremamente útil para os pacientes que fazem acompanhamento para hepatite viral C (MACIEL, 2015; VISO, 2007).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Determinar os marcadores inflamatórios e bioquímicos em portadores de hepatite viral C ao longo do tratamento combinado com interferon alfa peguilado e ribavirina.

3.2 Objetivos específicos

- Delinear o perfil do portador da hepatite C em tratamento, através de dados de identificação e indicadores sociais;
- Investigar a incidência de outras doenças no portador de hepatite C;
- Quantificar marcadores bioquímicos de função hepática na população estudada;
- Quantificar as proteínas de fase aguda;
- Avaliar a expressão das citocinas inflamatórias;
- Quantificar os níveis de adiponectina.

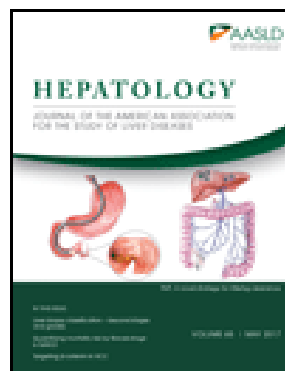
PARTE II

MANUSCRITO

**INFLAMMATORY AND BIOCHEMICAL MARKERS IN VIRAL HEPATITIS
CARRIERS ALONG THE TREATMENT COMBINED WITH PEGUILED
INTERFERON ALPHA AND RIBAVIRIN**

Vinícius Tejada Nunes, Juliana Mezzomo, Mariana Ziolkowsk, Raqueli Bittencourt,
Vanusa Manfredini, Jacqueline da Costa Escobar Piccoli

Em fase de preparação para submissão para a revista Hepatology



Inflammatory and biochemical markers in viral hepatitis C carriers along the treatment combined with peguiled interferon alpha and ribavirin

Vinícius Tejada Nunes¹, Juliana Mezzomo¹, Mariana Ziolkowsk²,
Raqueli Bittencourt², Vanusa Manfredini¹, Jacqueline da Costa Escobar Piccoli¹.

Affiliation

¹ Programa de Pós-graduação em Bioquímica - Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), Campus Uruguaiana, RS, Brasil.

² Secretaria de Saúde do município de Uruguaiana, RS, Brasil

* Correspondence should be addressed: Jacqueline da Costa Escobar Piccoli, Universidade Federal do Pampa – Campus Uruguaiana, GESTOX – Grupo de Estudos em Estresse Oxidativo, BR 472, Km 585, Uruguaiana, RS, Brazil, CEP: 97500-970. Tel.: 55-55 3911-200. E-mail address: jcepliccoli@yahoo.com.br

Abstract

Viral hepatitis represents one of the greatest public health problems in the world and also in Brazil due to the high prevalence. In the western region of Rio Grande do Sul, the municipalities bordering Argentina and Uruguay have the highest number of reported cases, and in the municipality of Uruguaiana, the hepatitis C virus is the most prevalent. Chronic hepatitis C is asymptomatic in the vast majority of cases, which makes its diagnosis very difficult; however, routine biochemical examinations are important in monitoring infection and inflammation in the liver. Chronic hepatitis C can progress to cirrhosis or hepatocarcinoma, leading to death. Treatment of carriers includes combined antiviral therapy of pegylated interferon alfa and ribavirin, drugs distributed by the Unified Health System. However, research indicates that patients with chronic hepatitis C in combination treatment have several adverse effects at the systemic level. Thus, the objective of this study was to determine inflammatory and biochemical markers in patients with chronic hepatitis C who are taking combination therapy with pegylated interferon alpha and ribavirin. The 43 patients were recruited at the referral service of the municipality of Uruguaiana (CAMMI) and submitted to a collection of whole blood in EDTA tube (10 mL) after agreeing to participate in the study. The clinical information of the carrier was obtained through the patient's medical records, and the biochemical and inflammatory parameters were determined through commercial kits. The results found in hepatic function markers (GOT, GTP, GGT and ALP) are statistically increased at the time of HCV diagnosis in relation to the control group. On the other hand, the levels of albumin and adiponectin are significantly decreased in the HCV group compared to the control group. An improvement in the levels of these biochemical markers was observed throughout the combined treatment. Acute phase proteins have statistically increased levels in the HCV group compared to the control group, however, throughout the combined therapy there is a statistically significant reduction in the levels of these proteins reaching similar values to the control group. The expression of inflammatory cytokines is statistically increased at the time of HCV diagnosis in relation to the control group, and again, the combined treatment reduces their levels statistically. With this, it is suggested that at the end of the combined therapy there was an improvement in the inflammatory process of the liver, which contributes to the quality of life of the patient.

Keywords: hepatitis C, inflammatory cytokines, biochemical markers, acute phase proteins levels, combination therapy.

1 Introduction

Hepatitis C represents one of the greatest public health problems in the world and also in Brazil due to the high prevalence, the increase in its incidence in the world population, the high frequency of evolution to the chronic forms of the disease and its economic impact on society, besides not having specific vaccination (CONTE, 2000; FOCACCIA, 2007; MESSINA et al., 2015; LU et al., 2015).

The treatment is performed through the combination therapy of two drugs: pegylated interferon alpha and ribavirin, but even with this treatment the patients still develop some degree of chronic liver damage, sometimes with progression to cirrhosis and hepatocellular carcinoma, with the presence of great inflammatory activity that has a direct relation with these serious consequences (MARTÍNEZ-ESPARZA et al., 2015). The treatment period of 24-48 weeks depends on the genotype found, obtaining a clearance of around 80% for viral genotypes 2 and 3 and about 40% for genotype 1. Throughout the treatment, the carrier performs exams hematological, biochemical and quantification of viral load for the follow-up of treatment and monitoring of liver lesions (GHANY, 2009; GOWER et al., 2014).

Studies recently published have shown that chronic HCV infection may be associated with imbalance of inflammatory cytokines and these play an important role in the efficacy of drug treatment. Analysis of inflammatory cytokine expression during HCV infection may assist in elucidating host-HCV interactions mechanisms and identify predictors of combined treatment of ribavirin and pegylated interferon alpha (LU et al., 2016; BELTRA & DECALUWE, 2016). Thus, in view of the above, the objective of this study was to evaluate the expression of inflammatory cytokines in patients with viral hepatitis C in combination treatment.

2 Materials and Methods

2.1 Patient selection

2.1.1 Inclusion criteria

The study was carried out with patients with viral hepatitis C enrolled in the Viral Hepatitis Sector of the Municipal Department of Uruguaiiana, which is linked to the Screening and Follow-up Center and Specialized Service in sexually transmitted diseases and Viral

Hepatitis Epidemiological Surveillance. Control subjects were randomly enrolled with the registry of the Municipal Health Department of the city of Uruguaiana (RS). All study participants signed an informed consent form.

2.1.2 Exclusion criteria

Patients with other associated systemic pathological conditions, such as infections or neoplasms and autoimmune disorders, were excluded from this study; patients with clinical or biological data indicating chronic kidney disease and those individuals who did not meet the criteria set forth in the subsection above were also excluded.

2.2 Characterization of the sample

The total sample in this study was composed of 93 participants: 50 healthy individuals to be included in the control group and 43 patients with HCV. All subjects in the control group were negative for HCV, HBV, HIV, HBsAg, total anti-HBc, and anti-HCV and had normal serum transaminase concentrations. The HCV group was divided into four groups: diagnosis (free of combined pharmacological treatment), time 1 (onset of combined treatment), time 2 (half of the combined treatment), and time 3 (final of the combined treatment). Treatment time was established according to the degree of hepatic impairment and the number of pegylated interferon alpha applications performed in the week of 08/31/15 to 09/04/15.

Pharmacotherapeutic follow-up was carried out at the Center for the Application and Monitoring of Injectable Drugs (CAMMI), a partnership between the state and municipality, which operates according to Administrative Rule 554/2005 and is the Reference Center for the Region of the Western Border (RS), serving patients with Hepatitis C according to the Clinical Protocol and Therapeutic Guidelines for Viral Hepatitis C and Co-infections (Ordinance 221/2011) through the reception and integral follow-up of patients during treatment.

The data to establish the sociodemographic profile of patients with viral hepatitis C from the study were obtained from patients' charts at the CAMMI.

For the accomplishment of this study, 5 groups were established as described below:

Control group (n = 50): healthy individuals

Diagnosis of HCV (n = 10): HCV carriers

Time 1 (n = 10): 1/3 of the treatment

- 24 weeks of treatment: 1-8 applications
- 48 weeks of treatment: 1-16 applications

Time 2 (n = 11): 2/3 of the treatment

- 24 weeks of treatment: 9-16 applications
- 48 weeks of treatment: 17-32 applications

Time 3 (n = 12): 3/3 of treatment

- 24 weeks of treatment: 17-24 applications
- 48 weeks of treatment: 33-48 applications

2.3 Biochemical parameters

Hepatic function (GOT, GTP, GGT and ALP) markers and plasmatic fibrinogen were measured using automated analyzers (ChemWell[®]-T, Palm City, FL, USA) using specific reagents (Bioclin[®], Belo Horizonte, MG, Brazil). All assays were performed in triplicate.

2.4 Analysis of inflammatory markers

The levels of the cytokines IL-1 β , IL-6, IL-8 and TNF- α were measured in serum using ELISA immunoassay kits according to the manufacturer's instructions (Neogen do Brasil, Indaiatuba, SP, Brazil). The serum levels of adiponectin and C-reactive protein (CRP) were measured using, respectively, Elisa AdipoQ Kit (Abnova[®], Walnut, CA, USA) and CRP kit (Bioclin[®], Belo Horizonte, MG, Brazil). And the serum amyloid A protein (SAA) levels were measured using ELISA immunoassay kits according to the manufacturer's instructions (Science PRO[®], São Caetano do Sul, SP, Brazil). All assays were performed in triplicate.

2.5 Statistical analysis

Results were expressed as mean \pm standard deviation. Two-way ANOVA analysis was used followed by Bonferroni test, with a significance level of $\alpha = 0.05$. The statistical software GraphPad Prism 5.0 Free was used, available at <<http://www.graphpad.com/demos/>>.

2.5 Ethical aspects

The study was approved by the Research Ethics Committee of Unipampa (protocol number 001/2012) and authorized by the secretary of health of the municipality of Urugaiana, RS. The researchers followed the recommendations of resolution 466/12 of the National Health Council of the Ministry of Health.

3 Results

The socio-demographic profile of patients with viral hepatitis C study participants is presented in Table 1. Of the 43 patients with viral hepatitis C recruited for the study, 33 were male and 10 were female. Most of the patients (26 patients) were over 40 years of age and had no primary education (26 patients), none of the participants were institutionalized. The average family income was one (01) minimum wage (27 patients).

Combined treatment causes many side effects, such as chronic non-communicable diseases. Of the 43 participants, 9 reported depressive symptomatology and 19 did not present any other type of illness. It has also been reported that 13 of these patients used medication continuously.

The HCV genotypes 1, 1a, 1b, 2, and 3 were found among the 43 samples. The general frequencies were 16 patients for genotype 1b, 14 for genotype 3, 7 for genotype 1a, and 5 for genotype 1. Genotype 2 was found in only one participant. In this study, 35 participants had a high viral load (>200,000 copies/mL) and 8 had a low viral load (<200,000 copies/mL).

Table 1. Socio-demographic profile of viral hepatitis C bearers in the study.

Variable	Classification	N°
Age	< 40 years	17
	> 40 years	26
Gender	Male	33
	Female	10
Family income (minimum wage)	Until 1 s.m	27
	Plus 1 s.m.	16
Institutionalized	Yes	0
	No	43
Education	Incomplete 1st grade	26
	Complete 1st grade	8
	2° grau Incomplete	3
	2° grau Complete	6
Non-transmissible diseases	Diabetes mellitus	4
	Arterial hypertension	8
	Pulmonary disease	2
	IAM	2
	Dyslipidemia	1
	Angina	4
	Ulcer	7
	AVC	2
	Depression	9
	Anemia	4
Medications for continuous use	Neither	21
	Yes	13
Genotype	No	30
	1	5
	1a	7
	1b	16
	2	1
Viral load	3	14
	Below (< 200.000 IU/L)	8
	Above (> 200.000 IU/L)	35

In the table 2 shows the hepatic function markers and adiponectin levels in the groups.

Table 2. Hepatic function markers and adiponectin levels in participants of the study.

Parameter	Controls	HCV	Treatment	Treatment	Treatment
		Diagnostic	Time 1	Time 2	Time 3
GOT (U/L)	45.4±12.5	109.7±13.5*	76.18±14.5	72.8±12.3	59.4±13.7 [#]
GPT (U/L)	33.2±11.5	88.7±10.7*	74.8±9.8	69.6±8.6	45.3±10.2 [#]
GGT (U/L)	55.6±9.6	91.1±6.2*	85.2±5.6	83.1±4.8	81.0±5.6
Alkaline phosphatase (ALP) (U/L)	75 ± 12	126.6 ± 93.1*	105.0 ± 84.4	71.42 ± 32.4	76.7± 15.6
Albumin (g/dL)	4.8 ± 1.0	2.9 ± 0.4*	3.5 ± 1.2	3.5 ± 0.4	3.8 ± 0.6
Adiponectin (mg/L)	12.4 ± 0.3	6.5±0.7*	6.8±0.6	8.8±0.8	11.9±1.0 [#]

Values were expressed as mean ± SD. Two-way ANOVA analysis was used followed by Bonferroni test, with a significance level of $p < 0.05$. * $p < 0.05$ HCV diagnosis in relation to the control group; # $p < 0.05$ treatment time 3 in relation to treatment time 1.

The results found in liver function markers (GOT, GTP, GGT and ALP) were statistically increased ($p < 0.05$) at the time of HCV diagnosis in relation to the control group. Albumin and adiponectin levels were significantly decreased ($p < 0.05$) in the group diagnosed with HCV in relation to the control group. During the course of treatment, hepatic function (GOT and GPT) and adiponectin improved in HCV patients at the end of the combined treatment (time 3) compared to the start of treatment (time 1) ($p < 0.05$). An improvement in the levels of all biochemical markers was observed throughout the combined treatment.

The results of the acute phase proteins are shown in figure 1. It can be observed that C-reactive protein (CRP) levels (figure 1A) are statistically high ($p < 0.05$) at the time of HCV diagnosis in relation to the control group. However, during the combined treatment, a statistically significant reduction in CRP levels ($p < 0.05$) occurred at all treatment times in relation to the untreated group. At the end of the combined treatment (time 3) the levels of CRP are similar to the control group.

Serum amyloid A protein (SAA) levels are shown in Figure 1B. The results show that there was a statistically significant increase ($p < 0.05$) in SAA levels in the group diagnosed with HCV in relation to the control group. In groups with HCV diagnosis and treatment time 1 there was no statistical difference. At times 2 and 3 of the combined treatment, a statistically

significant reduction ($p < 0.05$) occurred in the serum levels of the SAA in relation to treatment time 1, reaching values similar to that of the control group.

The levels of plasmatic fibrinogen found in the study are shown in Figure 1C. HCV patients had statistically increased plasma levels of fibrinogen ($p < 0.05$) in relation to the control group. Throughout the combined treatment there is a gradual and statistically significant reduction ($p < 0.05$) in plasma fibrinogen at treatment times 1, 2 and 3 in relation to the group diagnosed with HCV.

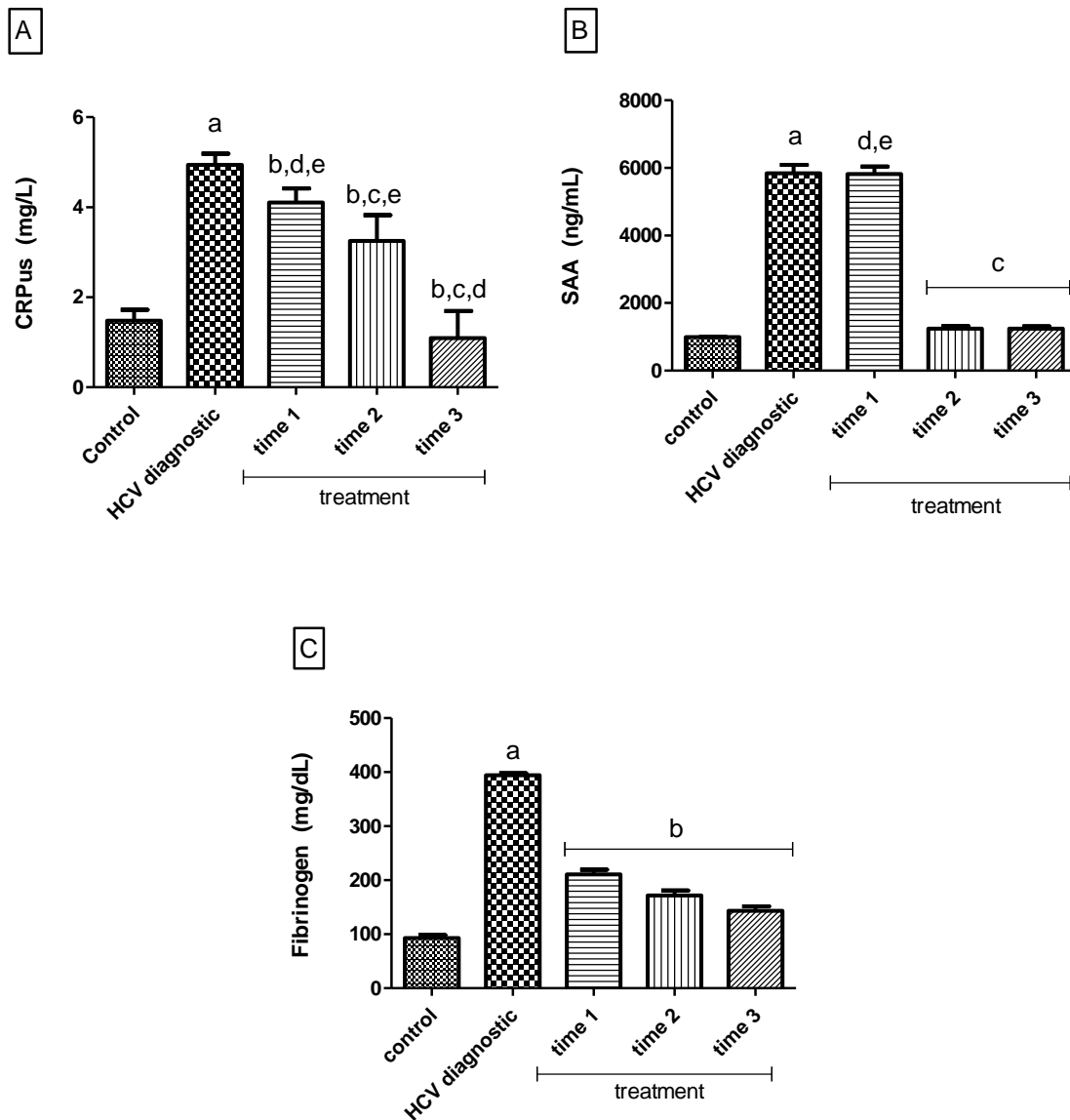


Figure 1: Acute phase proteins levels. 1A: C-reactive protein (CRP); 1B: Serum amyloid A protein (SAA); 1C: Fibrinogen. ^a Significantly different of the control group ($p < 0.05$); ^b Significantly different of the HCV diagnostic ($p < 0.05$); ^c Significantly different of the treatment 1 ($p < 0.05$); ^d Significantly different of the treatment 2 ($p < 0.05$); ^e Significantly different of the treatment 3.

Figure 2 shows the proinflammatory markers evaluated in this study. The levels of TNF- α (figure 2A) were statistically increased ($p < 0.05$) in the groups with diagnosis of HCV, time 1 and time 2 of combined treatment in relation to the control group. At the end of the combined treatment (time 3) a statistically significant reduction ($p < 0.05$) in the TNF- α level was observed, values similar to the control group were found.

IL-1- β levels are shown in Figure 2B. The results showed a statistically significant increase ($p < 0.05$) in IL-1- β levels in the group diagnosed with HCV compared to the control group. At the beginning of the combined treatment (time 1) there was also a statistically significant ($p < 0.05$) increase in IL-1- β levels compared to the untreated group and serum levels of this interleukin reduced statistically ($p < 0.05$) in the Half (time 2) and final (time 3) of the combined pharmacological therapy in relation to group 1.

In Figure 2C are shown the IL-6 levels. A statistically significant ($p < 0.05$) increase in IL-6 levels was observed in the group diagnosed with HCV compared to the control group. Combined treatment of pegylated interferon alfa and ribavirin reduced the levels of IL-6 statistically ($p < 0.05$) between the treated groups, and at the end of the combined pharmacological treatment (time 3) levels were similar to those in the group control.

Serum IL-8 levels are shown in Figure 2D. The results indicate a statistically significant increase ($p < 0.05$) in IL-8 levels in the group diagnosed with HCV in relation to the control group. No significant difference was observed at times 1 and 2 of combined treatment, however, IL-8 levels significantly reduced ($p < 0.05$) at the end of treatment (time 3) in relation to the other times and to the HCV diagnosis group.

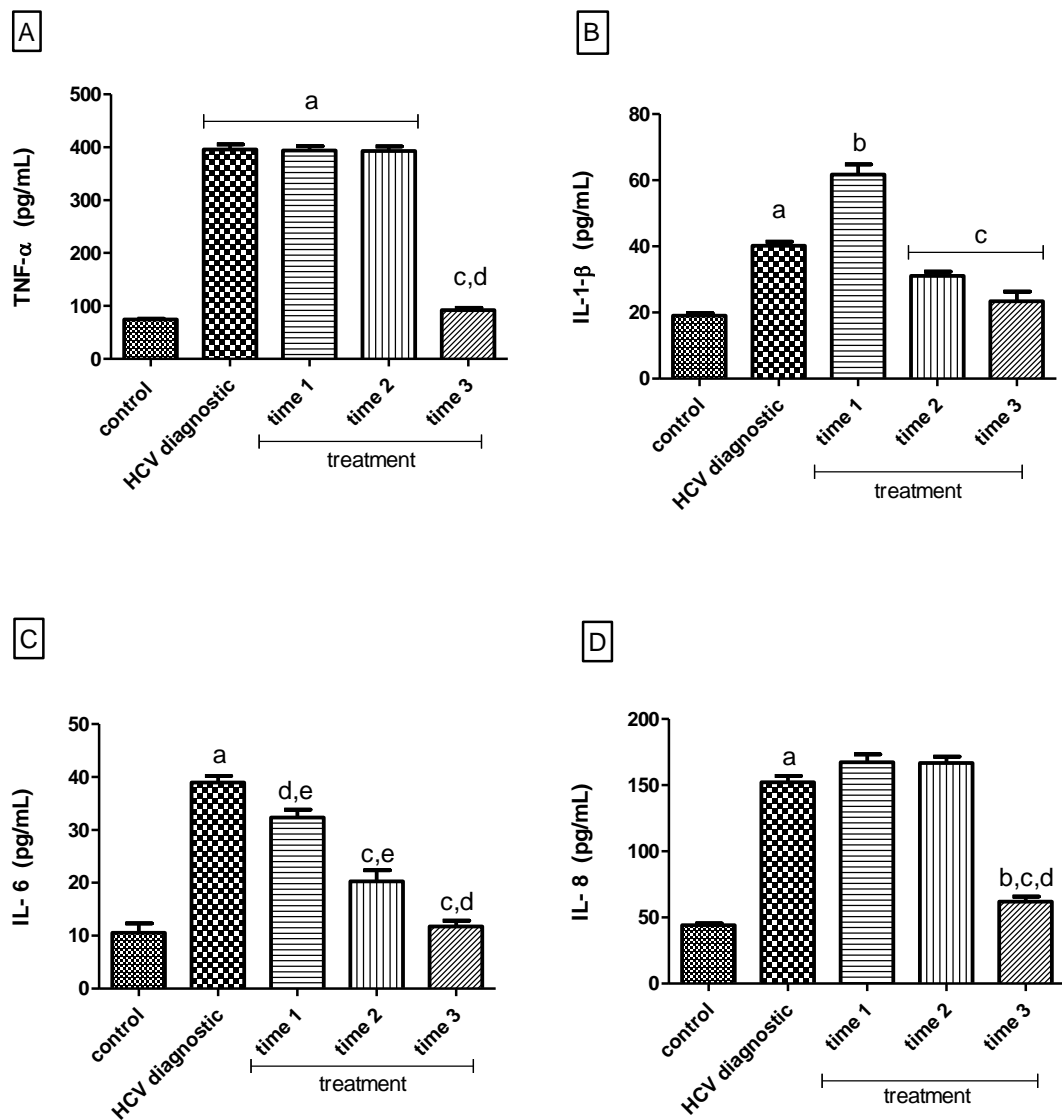


Figure 2: Expression of Proinflammatory Interleukins. 2A: TNF- α . 2B: IL1- β . 2C: IL-6. D: IL-8.

^a Significantly different of the control group ($p < 0.05$); ^b Significantly different of the HCV diagnostic ($p < 0.05$); ^c Significantly different of the treatment 1 ($p < 0.05$); ^d Significantly different of the treatment 2 ($p < 0.05$); ^e Significantly different of the treatment 3.

4 Discussion

This is the first work in the literature that evaluated the levels of acute phase proteins and the expression of inflammatory cytokines throughout the combined treatment in patients with hepatitis C. In this study, a prevalence of HCV patients of the masculine gender and older than 40 years was observed. Alves et al. (2003) showed in their study that males were also more prevalent than females and 71.7% of patients were over 40 years of age. These findings are also in agreement with data from the Epidemiological Bulletin of Viral Hepatitis,

whose cases confirmed and notified in Brazil, since 1999, amount to more than 152 thousand cases of hepatitis C, with 89,858 (58.8%) cases among men and 62,796 (41.2 %) Among women (BRASIL, 2016).

A study by Banjac et al. (2016) showed that therapy with pegylated interferon alpha and ribavirin causes psychiatric side effects, with depressive symptoms being the most prevalent. In this study, it was observed that among the noncommunicable diseases, depression was one of the most cited among patients with HCV throughout the combined therapy. The study by Wang et al. (2016) involving HCV patients also using combination antiviral therapy showed that cases of depression increased significantly in both groups over time. Another study by Medeiros and collaborators (2014) also showed that pegylated interferon alpha is associated with a high incidence of depressive symptoms, corroborating with findings in the literature.

Analyzing the characterization of the samples regarding the distribution of genotypes in HCV carriers, a predominance of type 1 genotype was observed, corroborating a study by Campiotto and collaborators (2005), where they demonstrated that in Brazil, genotype type 1 is predominant in all states. Another study conducted in 98 countries showed a distribution of genotypes as follows: genotype 1 was the most common (46%), followed by genotype 3 (22%), genotype 2 (13%) and genotype 4 (13%) (GOWER, 2014).

During the combined treatment laboratory tests are necessary for the clinical monitoring of the patient (BRASIL, 2015). In the present study, significant alterations in liver function parameters (GOT, GPT, GGT and ALP) and albumin were found in patients with HCV compared to the control group. These results are in accordance with the work of Saray et al. (2013) who evaluated patients with chronic hepatitis C before and after combined treatment and also found a significant increase in liver enzymes among HCV patients before treatment and a decrease after treatment. This suggests that the action of antiviral therapy reduced the replication of HCV within the hepatocyte, and consequently decreases the injury to liver tissue (LEVENT, et al., 2006). However, albumin levels did not present a statistically significant difference (SARAY et al., 2013).

Adiponectin is an adipokine secreted by adipose tissue with important metabolic function, including catabolism of glucose and fatty acids (MENZAGHY et al., 2007). In this study adiponectin levels were significantly reduced in patients with hepatitis C compared to the control group, however, their levels were reestablished at the end of the combined treatment. The success of combination therapy is therefore observed, since it is suggested that the anti-inflammatory effects of adiponectin may protect the liver from inflammatory process

development and cell injury (OUCHI et al, 2000). In the study by Saad and colleagues (2013), who evaluated predictive factors responsive to treatment of hepatitis C, he found that serum adiponectin levels are positive predictors for a sustained virological response in these individuals. Similar results were also observed in a study developed by Khedr et al. (2015) who evaluated the levels of adiponectin in children infected with the hepatitis C virus.

C-reactive protein is an acute liver protein produced by the liver. Their serum levels rise after the acute onset of inflammation, so C-reactive protein seems to directly influence the regulation of the inflammatory response, presenting pro and anti-inflammatory activity and contributing to the resolution of this process (Beltra & Decaluwe, 2016). In the present study, significantly higher levels of CRP were found in patients with hepatitis C. During the combined treatment, there was a time-dependent decrease in serum levels, reaching concentrations similar to that of the control group.

Serum amyloid A protein (SAA) is a family of proteins encoded by genes with high homology. It is produced by the liver in response to different inflammatory and metabolic conditions, such as diseases, traumas and neoplasms (SUN & YE, 2016). The results found in this study showed significantly elevated levels of SAA in HCV patients at the time of diagnosis in relation to the control group, however their levels are normalized during the combined treatment (time 2 and 3). Work developed by Piotti et al. (2016) in a pilot study, have shown that SAA levels are significantly elevated during the initial phase with combined therapy with pegylated interferon alpha and ribavirin. In another study by Gschwantler (2014) the authors suggested that SAA plays an important role and is considered a biomarker of hepatitis C progression and therapeutic response.

Another important protein is fibrinogen, synthesized in the liver, by the hepatocytes and is a precursor of the fibrin clot, having a fundamental function in the body's hemostasis (MACIEL, 2015). In this study, HCV patients had statistically increased plasma levels of fibrinogen compared to the control group, but during the combined treatment, a gradual and statistically significant reduction in fibrinogen was observed in all treatment times compared to the group diagnosed with HCV. Our results are in agreement with the findings of Saray and colleagues (2013) who evaluated levels of plasma fibrinogen in patients with HCV before and after combined treatment, but did not present statistically significant differences between groups.

Expression of proinflammatory cytokines are considered to be good markers for evaluating the progression of various inflammatory diseases, including viral hepatitis (BELTRA & DECALUWE, 2016). In our study, levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IL-8 were

statistically high in the HCV group compared to the control group. Throughout the combined treatment a decrease of the expression of these pro-inflammatory interleukins is observed, being that in the treatment time 3 they reach the same or similar levels or control group. A study developed by Lu et al. In 2016 divided the patients with viral hepatitis C into two groups: with sustained virologic response and no sustained virological response and observed levels similar to those of TNF- α and IL-1 β to those found in this study; Levels of IL-6 and IL-8 are at odds with our findings.

5 Conclusion

The results obtained in this study, it can be suggested that both hepatic function markers and acute phase proteins and the expression of proinflammatory interleukins are increased in the HCV carrier, however, during the combined treatment with pegylated interferon alpha and ribavirin their blood levels decrease reaching concentrations similar to those of the control group. Therefore, it can be concluded that the combination therapy was able to improve the hepatic inflammatory process of the patients as well as improvement in the quality of life.

Conflicts of interest statement

All authors report no conflict of interest

References

- ALVES, A. V. et al. Hepatite Crônica pelo Vírus C com Interferon- α e Ribavirina: a experiência da Secretaria de Saúde do Rio Grande do Sul. **Arquivos Gastroenterologia**, v.40, n.4, 2003.
- BANJAC, V.; ZIVLAK-RADULOVIC, N.; MISKOVIC, M. The Effect of Combination Antiviral Therapy in the Treatment of Hepatitis C on the Occurrence of Depressive Disorder in Patients Treated for Hepatitis C in the Republic of Srpska. **Medical Archive**. v. 70, p. 127-130, 2016.
- BELTRA, J. C. & DECALUWE, H. Cytokines and persistent viral infections. **Cytokine**, v. 82, p. 4 - 15, 2016.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais**. p. 68, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico - Hepatites virais**. v. 15, p. 1-72, 2016.

CAMPIOTTO, S.; PINHO, J. R. R.; CARRILHO, F. J. *et al.* Geographic distribution of hepatitis C vírus genotypes in Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 38, p. 41-49, 2005.

CONTE, V. P. Hepatite crônica por vírus C: Parte 1. Considerações gerais. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 37, p. 187-193, 2000.

FOCACCIA, R. **Hepatites virais**. 2^a ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2007.

GHANY, M.G., STRADER, D. B.; THOMAS, D. L.; SEEFF, L. B. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. **Hepatology**, v. 49, p. 1335-1374, 2009.

GOWER, E.; ESTES, C.; BLACH, S; RAZAVI-SHEARER; K, RAZAVI; H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. **Journal of Hepatology**, v. 61, p. S45-S57, 2014.

GSCHWANTLER, M.; DULIC, M., DULIC-LAKOVIC, E. *et al.* Increased levels of serum amyloid A during the early phase of hepatitis C treatment with interferon are associated with sustained virologic response - a pilot study. **Journal Gastrointest. Liver Disease**. v. 23, p. 101-102, 2014.

HANAFIAH, K. M. *et al.* Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. **Hepatology**, v. 57, p. 1333-1342, 2013.

KHEDR, M. A.; SIRA, A. M.; SABER, M. A.; RAI, G. Y. Serum Adiponectin, Vitamin D, and Alpha-Fetoprotein in Children with Chronic Hepatitis C: Can They Predict Treatment Response? **International Journal of Hepatology**. v. 2015, p. 1-9 2016.

LAVANCHY, D. Evolving epidemiology of hepatitis C vírus. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 17, p. 107-115, 2011.

LEVENT, G *et al.* Oxidative stress and antioxidant defense in patients with chronic hepatitis C patients before and after pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin therapy. **Journal of Translational Medicine**, v.4, p.1-6, 2006.

LU, M. Y.; HUANG, C. I.; DAI, C. Y. *et al.* Elevated on-treatment levels of serum IFN-gamma is associated with treatment failure of peginterferon plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C. **Nature**. DOI: 10.1038/srep22995, 2016.

MACIEL, C. Proteínas de Fase Aguda. **Laboratório Humberto Abraão**. 5 p., Fev. 2015.

MARTÍNEZ-ESPARZA, M.; TRISTÁN-MANZANO, M.; RUIZ-ALCARAZ, A. J.; GARCÍA-PEÑARRUBIA, P. Inflammatory status in human hepatic cirrhosis. **World Journal of Gastroenterology**, v.21, p. 11522-11541, 2015.

MEDEIROS, L. P. J. *et al.* Interferon-induced depression in patients with hepatitis C: an epidemiologic study. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 60, p. 35-39, 2014.

MENZAGHI, C.; TRISCHITTA, V.; DORIA, A. Genetic influences of adiponectin on insulin resistance, type 2 diabetes, and cardiovascular disease. **Diabetes**, vol. 56, p. 1198-1209, 2007.

MESSINA, J. P.; HUMPHREYS, I.; FLAXMAN, A.; BROWN, A.; COOKE, G. S.; PYBUS, O. G.; BARNES, E. Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. **Hepatology**, v. 61, p. 77-87, 2015.

OUCHI, N.; KIHARA, S.; ARITA, Y. et al. Adiponectin, an adipocytederived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway. **Circulation**, vol. 102, p. 1296-1301, 2000.

PIOTTI, K. C.; YANTISS, R. K.; CHEN, Z.; JESSURUM, J. Serum amyloid A immunohistochemical staining patterns in hepatitis. **Histopathology**. v. 69, p. 937-942, 2016.

SAAD, Y.; AHMED, A.; SALEH, D. A.; DOSS, W. Adipokines and insulin resistance, predictors of response to therapy in Egyptian patients with chronic hepatitis C virus genotype 4. **European Journal Gastroenterology Hepatology**. v. 25, p. 920-925, 2013.

SARAY, A.; MESIHOVIĆ, R.; VUKOBRAT-BIJEDIĆ, Z.; GORNJAKOVIĆ, S.; VANIS, N.; MEHMEDOVIĆ, A.; PAPOVIĆ, V.; GLAVAŠ, S. Impact of sustained virus elimination on natural anticoagulant activity in patients with chronic viral hepatitis C. **Bosn J Basic Med Sci**. v. 13, p. 84-88, 2013.

SUN, L. & YE, R. D. Serum amyloid A1. Structure, function and gene polymorphism. **Gene**. v. 538; p. 48-57, 2016.

WANG, L-J. et al. Treatment-emergent depression and anxiety between peginterferon alpha-2a versus alpha-2b plus ribavirin for chronic hepatitis C. **BioMed Central Psychiatry**. v.16, p. 2-8, 2016.

PARTE III

4 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados nesse trabalho indicam que os portadores de hepatite viral C em tratamento combinado apresentaram:

- Marcadores de função hepática (TGO, TGP, GGT e FAL) aumentados no momento do diagnóstico do HCV em relação ao grupo controle;
- Níveis de albumina e adiponectina diminuídos no grupo HCV em relação ao grupo controle;
- Proteínas de fase aguda com níveis aumentados no grupo HCV em relação ao grupo controle e
- Expressão de citocinas inflamatórias aumentada no momento do diagnóstico do HCV em relação ao grupo controle.
- Marcadores de função hepática, proteínas de fase aguda e citocinas inflamatórias apresentaram níveis diminuídos ao longo do tratamento combinado nos portadores de hepatite C, alcançando níveis sanguíneos semelhantes e/ou iguais ao grupo controle.

5 PERSPECTIVAS

Este trabalho tem como perspectivas:

- Ampliar o número de portadores de hepatite viral C
- Determinar o perfil lipídico dos portadores;
- Determinar as apolipoproteínas A e E;
- Quantificar as citocinas anti-inflamatórias;
- Determinar os níveis da leptina.

REFERÊNCIAS

- ARITA Y., KIHARA S., OUCHI N., et al. Paradoxical decrease of an adipospecific protein, adiponectin, in obesity. **Biochemical and Biophysical Research Communication**. v. 257, p. 79-83, 1999.
- AUGUSTO, F. & LOBATO, C. Hepatite C. Augusto F & Lobato C. Hepatite C. In: **Hepatites Víricas**. Ed. Núcleo de Gastrenterologia dos Hospitais Distritais. p. 22-130, 2004.
- BARANOVA A. et al. Association of serum adipocytokines with hepatic steatosis and fibrosis in patients with chronic hepatitis C. **Digestion**, v. 83, p. 32-40, 2011.
- BELLA S. et al. Decrease and dysfunction of dendritic cells correlate with impaired hepatitis C virus-specific CD4+ T-cell proliferation in patients with hepatitis C virus infection. **Immunology**, v. 121, p. 283-292, 2007
- BELTRA, J. C. & DECALUWE, H. Cytokines and persistent viral infections. **Cytokine**, v. 82, p. 4 - 15, 2016.
- BERTOLETTI A. et al. Role of the cell-mediated immune response in the pathogenesis of hepatitis B virus infection: possible immune-therapeutic strategies. **Acta Biomed Ateneo Parmense**, v. 67, p. 87-93, 1996.
- BOZKAYA H et al. Circulating IL-2 and IL-10 in chronic active hepatitis C with respect to the response to IFN treatment. **Infection**, v. 28, p. 309-313, 2000.
- BRADLEY, J.R. TNF-mediated inflammatory disease. *J Pathol*, v.214, p.149-160, 2008.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 639, de 26 de junho de 2000. Aprova o protocolo clínico e diretrizes terapêuticas - hepatite viral crônica tipo C. **Diário Oficial da União**, 26 de junho de 2000. Seção 1:33.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico - Hepatites virais**. v. 15, p. 1-72, 2016.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Hepatites virais: o Brasil está atento**. 3 ed. Brasília, DF, 2008, p. 60.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais**. p. 68, 2015.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 34, de 28 de setembro de 2007. Dispõe sobre protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para hepatite viral C. **Diário Oficial da União**, 09 de outubro de 2007. Seção 1:60.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite Viral C e Coinfecções**. Brasília: Editora MS, 2011.

BRASS, V.; PAL, Z.; SAPAY, N. *et al.* Conserved determinants for membrane association of nonstructural protein 5A from hepatitis C virus and related viruses. **Journal of Virology**, v. 81, p. 2745-2757, 2007.

BRANDÃO, A. B. M. *et al.* Diagnosis of hepatitis C in clinical practice: review of the literature. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v. 9, p. 161-168, Mar. 2001.

BROWN P. M. J.; NEUMAN M.G. Immunopathogenesis of hepatitis C viral infection: Th1/Th2 responses and the role of cytokines. **Clinic Biochemistry**, v. 34, p. 167-171, 2001.

CABRERA R *et al.* An immunomodulatory role for CD4(+)CD25(+) regulatory T lymphocytes in hepatitis C virus infection. **Hepatology**, v. 40, p. 1062-1071, 2004.

CACCIARELLI T. V. *et al.* Immunoregulatory cytokines in chronic hepatitis C virus infection: pre- and post-treatment with interferon alfa. **Hepatology**, v. 24, p. 6-9, 1996.

CAMPIOTTO, S.; PINHO, J.R.R.; CARRILHO, F.J.; SILVA, L.C.; SOUTO, F.J.D.; SPINELLI, V.; PEREIRA, L.M.M.B; COELHO, H.S.M.; SILVA, A.O.; FONSECA, J.C.; ROSA, H.; LACET, C.M.C.; BERNARDINI, A.P. Geographic distribution of hepatitis C virus genotypes in Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, p. 41-49, 2005.

CHAYAMA, K.; HAYES, C.N. Hepatitis C virus: How genetic variability affects pathobiology of disease. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 26, p. 83-95, 2011.

CLERICI M., SHEARER G. M. The Th1-Th2 hypothesis of HIV infection: new insights. **Immunology Today**, v. 15, p. 575-581, 1994.

CONSENSO SOBRE CONDUTAS NAS HEPATITES VIRAIS B e C. Sociedade Brasileira de Hepatologia. São Paulo - SP, 2002.

CONTE, V. P. Hepatite crônica por vírus C: Parte 1. Considerações gerais. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 37, p. 187-193, 2000a.

CONTE, V. P. Hepatite crônica por vírus C: Parte 2. Tratamento. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 37, p. 235-242, 2000b.

COSTA PASSOS, A. D. Aspectos epidemiológicos das hepatites virais. **Medicina**, v. 36, p. 30-36, 2003.

CRESPO J *et al.* Plasma leptin and TNF levels in chronic hepatitis C patients and their relationship to hepatic fibrosis. **Digestive Diseases and Science**, v. 47, p. 1604-1610, 2002.

CUA I. H. *et al.* Insulin resistance and liver injury in hepatitis C is not associated with virus-specific changes in adipocytokines. **Hepatology**, v. 46, p. 66-73, 2007.

DEL PRETE G. *et al.* Human Th1 and Th2 cells: functional properties, mechanisms of regulation, and role in disease. **Laboratory Investigation**, v. 70, p. 299-306, 1994.

- DU CLOS, T. W. Function of C-reactive protein. **Annual Medicine**, v. 32, p. 274-278, 2002.
- DURANTE-MANGONI, E. et al. Hepatic steatosis and insulin resistance are associated with serum imbalance of adiponectin/tumour necrosis factor-alpha in chronic hepatitis C patients. **Aliment Pharmacol Ther**, v.24, p.1349-1357, 2006.
- FAN X. G. et al. Circulating Th1 and TH2 cytokines in patients with hepatitis virus infection. **Mediador Inflammatory**, v. 7, p. 295-297, 1998.
- FEINGOLD, K.R. & GRUNFELD, C. Metabolic disturbances and wasting in the acquired immunodeficiency syndrome. New England Journal Medicine. v. 327, p. 329-337, 1992.
- FISCHER, J. Níveis Circulantes de Inteleucinas 6, 10 e 17 como Marcadores Prognósticos na Cirrose Hepática. Universidade Federal de Santa Catarina. Dissertação de Mestrado. 2016.
- FOCACCIA, R. **Hepatitis virais**. 2ª ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2007.
- FOFANA I. et al. Mutations that alter use of hepatitis C virus cell entry factors mediate escape from neutralizing antibodies. **Gastroenterology**, v. 143, p. 223-233, 2012.
- GAZE, R. et al. Das hepatopatias e icterícias às hepatites virais: configuração de um caleidoscópio. **Revista de Saúde Pública**, v. 47, p. 116-122, 2013.
- GHANY, M.G., Strader DB, Thomas DL and Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. **Hepatology**, v. 49, p. 1335-1374, 2009.
- GIANNINI, C.; BRECHÓ, C. Hepatitis C virus biology. *Cell Death Differ*. V. 10, p. 27-38, 2003.
- GONZÁLEZ-REIMERS E. et al. Relation between body fat and liver fat accumulation and cytokine pattern in non-alcoholic patients with chronic HCV infection. **Annals and Nutrition and Metabolism**, v. 55, p. 351-357, 2009.
- GOWANS, E. J. Distribution of markers of hepatitis C virus infection throughout the body. **Seminars in Liver Disease**, v. 20, p. 85-102, 2000.
- GOWER, E.; ESTES, C.; BLACH, S; RAZAVI-SHEARER; K, RAZAVI; H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. **Journal of Hepatology**, v. 61, p.S45-S57, 2014.
- GRETCH, D. R.; WILSON, J. J.; CARITHERS, R. L. J. Detection of hepatitis C virus RNA: Comparison of one-stage polymerase chain reaction (PCR) with nested-set PCR. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 31, p. 289-291, 1993.
- GRETCH D. R. Diagnostic tests for hepatitis C. **Hepatology**, v. 26, p. 43-47, 1997.
- GUAN M. et al. Three different functional microdomains in the hepatitis C virus hypervariable region 1 (HVR1) mediate entry and immune evasion. **Journal of Biological Chemistry**, v. 287, p. 35631-35645, 2012.

GUIMARÃES, D. E. D.; SARDINHA, F.L.C.; MIZURINI, D. M.; TAVARES DO CARMO, M. G. Adipokines: a new view of adipose tissue. **Revista de Nutrição**, v. 20, p. 549-559, 2007.

HASSAN, M.I. et al. Antiproliferative effect of hepatitis C virus on mitogen-stimulated peripheral blood mononuclear cells: potential role in viral persistence in Egyptian patients. **Clin Biochem**, v.40, p.1173-1179, 2007.

HASSAN, M. et al. Oxidative Stress Response in Patients Infected by Diverse Hepatitis C Virus Genotypes. **Hepatitis Monthly** v. 15, n. 2, p. 1-5, 2015.

HARUNA Y. et al. Human leukocyte antigen DRB1 1302 protects against bile duct damage and portal lymphocyte infiltration in patients with chronic hepatitis C. **Journal of Hepatology**, v. 32, p. 837-842, 2000.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 3. ed. NY: Oxford University Press, 2007.

HANAFIAH, K. M. et al. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. **Hepatology**, v. 57, p. 1333-1342, 2013.

HUANG Y. S. et al. Serum levels of cytokines in hepatitis C-related liver disease: a longitudinal study. **Zhonghua Yi Xue Za Zhi**, v. 62, p. 327-333, 1999.

HUNG C. H. et al. Association of inflammatory and anti-inflammatory cytokines with insulin resistance in chronic hepatitis C. **Liver International**, v.29, p. 1086-1093, 2009.

IRSHAD, M.; MANKOTIA, D. S.; IRSHAD, K. An insight into the diagnosis and pathogenesis of hepatitis C virus infection. **World Journal of Gastroenterology**, v. 19, n. 44, p. 7896-7909, 2013.

IVANOV, A. V et al. HCV and Oxidative Stress in the Liver. **Viruses**, v.5, n. 2 p. 439–469, 2013.

IWATA K et al. Interferon gamma production by peripheral blood lymphocytes to hepatitis C virus core protein in chronic hepatitis C infection. **Hepatology**, v. 22, p. 1057-1064, 1995.

JAESCHKE, H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury: present concepts. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v.26, p.173-179, 2011.

JIANG R. et al. Polarized populations of T helper cells in patients with chronic hepatitis B virus infection. **Zhonghua Yi Xue Za Zhi**, v. 80, p. 741-744, 2000.

JONSSON J. R. et al. Obesity and Steatosis Influence Serum and Hepatic Inflammatory Markers in Chronic Hepatitis C. **Hepatology**, v. 48, p. 80-87, 2008.

KANG, W.; SHIN, E. C. Clinical implications of chemokines in acute and chronic hepatitis C virus infection. **Yonsei Medicine Journal**, v. 52, p. 871-878, 2011.

KENDEEL, A et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in Egypt 2015: implications for future policy on prevention and treatment. **Liver International**, v.37, p. 45-53, 2017.

KERSHENOBICH D et al. Trends and projections of hepatitis C virus epidemiology in Latin America. **Liver International**, v.31, p. 18-29, 2011

KOZIEL M. J. Cytokines in viral hepatitis. **Semin Liver Dis**, v. 19, p. 157-169, 1999.

KOZIEL M. J. The role of immune responses in the pathogenesis of hepatitis C virus infection. **Journal of Viral Hepatology**, v. 4, p. 31-41, 1997.

KUSHNER, I. C-reactive protein and the acute-phase response. **Hospital Practice**, v.30, p. 13-28, 1990.

LETTERIO J. J., ROBERTS A. B. Regulation of immune responses by TGF-beta. **Annual Review of Immunology**, v. 16, p. 137-161, 1998.

LINDENBACH, B. D.; RICE, C. M. Unravelling hepatitis C replication from genome to function. **Nature**, v. 18, p. 933-938, 2005.

LYRA, A. C.; FAN, X.; DI BISCEGLIE, A. M. Molecular Biology And Clinical Implication Of Hepatitis C Virus. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, p. 691-695, 2004.

LOK A. S. F.; GUNARATNAM N. T. Diagnosis of hepatitis C. **Hepatology**, v. 26, p. 48-56, 1997.

LOZANO-SEPULVEDA, S. A. et al. Oxidative stress modulation in hepatitis C virus infected cells. **World Journal of Hepatology**, v. 7, p. 2880–2889, 2015.

LU, M. Y.; HUANG, C. I.; DAI, C. Y. et al. Elevated on-treatment levels of serum IFN-gamma is associated with treatment failure of peginterferon plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C. **Nature**. DOI: 10.1038/srep22995, 2016.

MAEDA K., OKUBO K., SHIMOMURA I., FUNAHASHI T., MATSUZAWA Y., MATSUBARA K. cDNA cloning and expression of a novel adipose-specific collagen-like factor, apM1 (Adipose Most abundante Gene transcript 1). **Biochemical and Biophysical Research Communication**. v. 221, p. 286-289, 1996.

MAAT, M. P. M.; KLUFT, C. Determinants of C-reactive protein concentration in blood. **Journal of Heart**, v. 2, p. 189-195, 2001.

MACIEL, C. Proteínas de Fase Aguda. **Laboratório Humberto Abraão**. 5 p., Fev. 2015.

MAGNONI, M. S. Perfil imunofenotípico e nível de citocinas plasmáticas em portadores de hepatite C crônica com diferentes graus de comprometimento hepático. Faculdade de Medicina de Botucatu - Unesp. Dissertação de Mestrado. 2014.

MALAGUARNERA M. et al. Serum interleukin 6 concentrations in chronic hepatitis C patients before and after interferon-alpha treatment. **International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v.35, p. 385-388, 1997.

MANGIA A. et al. HLA class II favors clearance of HCV infection and progression of the chronic liver damage. **Journal of Hepatology**, v. 30, p. 984-989, 1999.

MANNS, M. P.; MCHUTCHISON, J. G.; GORDON, S. C. et al., Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. **The Lancet**, v. 358, p. 958-965, 2001.

MARTÍNEZ-ESPARZA, M.; TRISTÁN-MANZANO, M.; RUIZ-ALCARAZ, A. J.; GARCÍA-PEÑARRUBIA, P. Inflammatory status in human hepatic cirrhosis. **World Journal of Gastroenterology**, v.21, p. 11522-11541, 2015.

MARTINS, C. C. **Perfil sérico de citocinas em pacientes com hepatite c crônica**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Bahia, UFBA, Brasil. 2013. 81 p.

MCHUTCHISON, J.; PATEL, K. Peginterferon alpha-2b: a new approach to improving response in hepatitis C patients. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 2, p. 1307-1315, 2001.

MEDEIROS-FILHO, J. E. M.; NEUMANN, A. U.; PINHO, J. R. IFN-a dosing frequency and HCV genotype affect early viral kinetics more than addition of ribavirin. **Anais VII International Symposium on Hepatitis C and Related viruses**. Sydney, Austrália, 2000.

MEDVEDEV, R.; PLOEN, D.; HILDT, E. HCV and Oxidative Stress: Implications for HCV Life Cycle and HCV-Associated Pathogenesis. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, 2016.

MEHTA, S.H.; GENBERG, B.L.; ASTEMBORSKI, J. Limited uptake of hepatitis C treatment among injection drug users. **J. Community Health**, v. 33, 2008.

MENDALL M. A. et al. Relation of serum cytokine concentrations to cardiovascular risk factors and coronary heart disease. **Heart**, v.78, p. 273-277, 1997.

MESSINA, J.P.; HUMPHREYS, I.; FLAXMAN, A.; BROWN, A.; COOKE, G.S.; PYBUS, O.G.; BARNES, E. Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. **Hepatology**, v. 61, p. 77-87, 2015.

MIZUKOSHI E.; REHERMANN B. Immune responses and immunity in hepatitis C virus infection. **Journal Gastroenterology**, v. 36, p. 799-808, 2001.

MOHD, H. K.; GROEGER, J.; FLAXMAN, A.D.; WIERSMA, S.T. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV Seroprevalence. **Hepatology**, v.57, p.1333–1342, 2013.

MOORE K. W. et al. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. **Annual Review of Immunology**, v. 19, p. 683-675, 2001.

MOURA, A. S. Marcadores Inflamatórios Solúveis como Preditores de Alterações Histológicas Hepáticas e Resposta Terapêutica na Infecção Crônica pelo Vírus da Hepatite C. Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. Tese de Doutorado. 2008.

NAPOLI J. et al. Progressive liver injury in chronic hepatitis C infection correlates with increased intrahepatic expression of Th1-associated cytokines. **Hepatology**, v. 24, p. 759-765, 1996.

NEUMAN M. G. et al. Cytokine– chemokine and apoptotic signatures in patients with hepatitis C. **Transl Res**, v. 149, p. 126-136, 2007.

NEUMAN M. G. et al. Kinetics of serum cytokines reflect changes in the severity of chronic hepatitis C presenting minimal fibrosis. **Journal of Viral Hepatology**, v. 9, p. 134-140, 2002.

NEUMAN M. G. et al. Markers of Inflammation and Fibrosis in Alcoholic Hepatitis and Viral Hepatitis C. **International Journal of Hepatology**, v. 2012, p. 23-67. 2012.

NEUMEIER, M.; WEIGERT, J.; SCHÄFFLER, A. et al. Different effects of adiponectin isoforms in human monocytic cells. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 79, p. 803-808, 2006.

NIH. **Management of hepatitis C: 2002**. NIH Consens State Sci Statements, v. 19, 2002.

OLIVEIRA, R. M. B; SAKATA, R. K.; ISSY, A. M.; GEROLA, L. M.; SALOMÃO, R. Citocinas e Dor. **Revista Brasileira de Anestesiologia**. v. 61, p. 260-265, 2011.

OUCHI N., KIHARA S., FUNAHASHI T., MATSUZAWA Y., WALSH, K. Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. **Current Opinion of Lipidology**. v. 14, p. 561-566. 2003.

PAWLOTSKY J. M.; GRETCH D. R. Molecular tools for the treatment of hepatitis C. **Antiviral Therapy**, v. 3, p. 45-55, 1998

PETERS, M. Mechanism of action of interferon. **Seminars Liver Disease**, v. 9, p. 235-239, 1989.

PIOTTI, K. C.; YANTISS, R. K.; CHEN, Z.; JESSURUM, J. Serum amyloid A immunohistochemical staining patterns in hepatitis. **Histopathology**. v. 69, p. 937-942, 2016.

RÉ, V. et al. Identification of hepatitis C virus subtype 2c by sequencing analysis in patients from Córdoba, Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 8, p. 995-8, 2007.

REHERMANN B. Interaction between the hepatitis C virus and the immune system. **Seminary Liver Disease**, v. 20, p. 127-141, 2000.

RODRIGUES-LUNA, H. & DOUGLAS, D. D. Natural history of hepatitis C following liver transplantation. **Current Opinion in Infectious Diseases**. v. 17, p. 363-371, 2004.

ROMAGNANI S. Human Th17 cells. **Arthritis Research Therapy**, v.10, p. 206-216, 2008.

- SBARIGIA, U. et al. Conceptual framework for outcomes research studies of hepatitis C: An analytical review. **Infection and Drug Resistance**, v. 9, p. 101-117, 2016.
- SOBCHAK D. M.; MONAKOVA E. A. Immune parameters in patients with chronic hepatitis C and with various histologic changes. **Klinicheskaia Meditsina**, v. 82, p. 49-52, 2004.
- STRAUSS, E. Hepatite C. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.34, p. 82-99, 2001.
- SZALAI, A.J. The antimicrobial activity of C-reactive protein. **Microbes Infection**, v. 4, p. 201-205, 2002.
- TAYLOR D. R. et al. Hepatitis C virus and interferon resistance. **Microbes and Infection**, v. 2, p. 1743-1756, 2006.
- TARDIFF, K. D.; WARIS, G.; SIDDIQUI, A. Hepatitis C virus, ER stress, and oxidative stress. **Trends Microbiology**. v. 13, p. 159-163, 2005.
- THIMME R. et al. Determinants of viral clearance and persistence during acute hepatitis C virus infection. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 194, p. 1395-1406, 2001.
- TILG, H. & MOSCHEN, R. A. Adipocytokines: Mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. **Nature Reviews Immunology**, v.6, p. :772-783, 2006.
- TILG, H.; VOGEL, W.; DINARELLO, C. A. Interferon-alpha induces circulating tumor necrosis factor receptor p55 in humans. **Blood**, v.85, p.433-435, 1995.
- TSAI S. L. et al. Detection of type 2-like T-helper cells in hepatitis C virus infection: implications for hepatitis C virus chronicity. **Hepatology**, v. 25, p. 449-458, 1997.
- TSAO, T.S.; TOMAS, E.; MURREY, H. E. et al. Role of disulfide bonds in Acrp30/adiponectin structure and signaling specificity: diferent oligomers activate diferent transduction pathways. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, p. 50817-50820, 2003.
- URBANI S. et al. Outcome of acute hepatitis C is related to virus-specific CD4 function and maturation of antiviral memory CD8 responses. **Hepatology**, v. 44, p. 126-139, 2006.
- VISO, A. T. R. Hepatite C crônica e citocinas - estudo no soro e no fígado. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Tese de Doutorado. 2007.
- VISO A. T. R. et al. Tissue and serum immune response in chronic hepatitis C with mild histological lesions. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, p. 25-32, 2010.
- VOLP, A. C. P.; ALFENAS, R. C. G.; COSTA, N. M. B. et al. Capacidade dos Biomarcadores Inflamatórios em Predizer a Síndrome Metabólica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolgia**, v. 52, p. 537-549. 2008.
- XING J. et al. Th9: a new player in asthma pathogenesis? **Journal of Asthma**, v. 48, p. 115-125, 2011.

YANG X. Y. et al. Th22, but not Th17 might be a good index to predict the tissue involvement of systemic lupus erythematosus. **Journal of Clinical Immunology**, v. 33, p. 767-774, 2013.

WANG, X. W.; HUSSAIN, S.P.; HUO, T.I.; WU, C.G. et al. Molecular pathogenesis of human hepatocellular. **Toxicology**, v. 181, p. 43-47, 2002.

WAKI H., YAMAUCHI T., KAMON J., et al. Impaired multimerization of human adiponectin mutants associated with diabetes: molecular structure and multimer formation of adiponectin. **Journal of Biological Chemistry**. v. 278, p. 40352-40363, 2003.

WARIS, G.; AHSAN, H. Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions. **Journal of Carcinogenesis**, v. 5, p. 1-8, 2006.

WASMUTH, H. E.; TACKE, F.; TRAUTWEIN, C. Chemokines in liver inflammation and fibrosis. **Seminars Liver Disease**. v. 30, p. 215-225, 2010.

WEDEMEYER H. et al. Impaired effector function of hepatitis C virus-specific CD8+ T cells in chronic hepatitis C virus infection. **Journal of Immunology**, v. 169, p. 3447-3458, 2002.

WHO EUROPE. Hepatitis C in the WHO European Region. n. July, 2015.

WHO. World Health Organization. Hepatitis C--global prevalence (update). **Weekly Epidemiological Record**, v. 75, p. 18-19, 2000.

WHO. World Health Organization. **Hepatitis C fact sheet n°164**. Geneva, 2012. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en>>. Acesso em: 03 mai. 2017.

YUDKIN J. S. et al. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v. 19, 972-978, 1999.

ZELANTE T. et al. IL-23 and the Th17 pathway promote inflammation and impair antifungal immune resistance. **European Journal Immunology**, v. 37, p. 2695-2706, 2007.

ZICCARDI P. et al. Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. **Circulation**, v. 105, p. 804-809, 2002.

ZYLBERBERG H. et al. Soluble tumor necrosis factor receptors in chronic hepatitis C: a correlation with histological fibrosis and activity. **Journal Hepatology**, v. 30, p. 185-191, 1999.

ZHU J., PAUL W. E. CD4 T cells: fates, functions, and faults. **Blood**, v. 112, p. 1557-1569, 2008.