



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE PESQUISA EM ONCOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ONCOLOGIA E CIÊNCIAS MÉDICAS

Susi dos Santos Barreto de Souza

**INVESTIGAÇÃO DE POLIMORFISMO DOS GENES *NFKB1*, *TYMS*, *UCP2* E
SGSM3 EM PACIENTES COM HEPATITE C CRÔNICA EM UMA POPULAÇÃO DA
REGIÃO NORTE DO BRASIL**

Belém – PA

2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE PESQUISA EM ONCOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ONCOLOGIA E CIÊNCIAS MÉDICAS

**INVESTIGAÇÃO DE POLIMORFISMO DOS GENES *NFKB1*, *TYMS*, *UCP2* E
SGSM3 EM PACIENTES COM HEPATITE C CRÔNICA EM UMA POPULAÇÃO DA
REGIÃO NORTE DO BRASIL**

Autora: Susi dos Santos Barreto de Souza

Orientadora: Prof. Dra. Samia Demachki

**Coorientadora: Profa. Dra. Lizomar de
Jesus Maués Pereira Moia**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Oncologia e Ciências Médicas do Núcleo de Pesquisa em Oncologia da Universidade Federal do Pará; como requisito para obtenção do título de Mestre em Oncologia e Ciências Médicas.

Belém – PA

2016

Susi Dos Santos Barreto de Souza

**INVESTIGAÇÃO DE POLIMORFISMO DOS GENES *NFKB1*, *TYMS*, *UCP2* E
SGSM3 EM PACIENTES COM HEPATITE C CRÔNICA EM UMA POPULAÇÃO DA
REGIÃO NORTE DO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Oncologia e Ciências Médicas do Núcleo de Pesquisa em Oncologia da Universidade Federal do Pará; como requisito para obtenção do título de Mestre em Oncologia e Ciências Médicas.

Data da Defesa: ____ / ____ / ____.

Banca examinadora:

Profª. Dra. Samia Demachki
Universidade Federal do Pará (Orientadora)

Profª. Dra. Lizomar de Jesus Maués Pereira Moia
Universidade Federal do Pará (Coorientadora)

Profª. Dra. Ivanete Abraçado Amaral
Universidade do Estado do Pará (Membro da Banca)

Prof. Dr. Paulo Pimentel de Assumpção
Universidade Federal do Pará (Membro da Banca)

Prof. Dr. Rommel Mario Rodríguez Burbano
Universidade Federal do Pará (Membro da Banca)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por permitir a realização deste momento em minha vida.

À minha orientadora, Dra Samia Demachki, pelo seu desejo em colaborar com a construção desta obra e por, mesmo diante de todas as dificuldades, sempre ter se mantido otimista de que daria tudo certo. Meu muito obrigada.

À minha coorientadora, Dra. Lizomar Moia, pelos ensinamentos clínicos e responsável pelo atendimento dos pacientes do Ambulatório de Hepatopatias Crônicas da Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará.

Aos meus familiares, pelo incentivo e confiança em meus objetivos.

Ao meu esposo por todo o incentivo e confiança que deposita em meus projetos estando incansavelmente a meu lado.

Ao professor Sidney Santos e sua equipe, em especial Darlen Carvalho e Marcos Amador, do Laboratório de Genética Humana e Médica do Instituto de Ciências Biológicas que viabilizaram a avaliação de SNPs.

A todos os colaboradores que se disponibilizaram a participar da pesquisa: professores e alunos do Núcleo de Pesquisas em Oncologia, bem como funcionários, residentes e nutricionistas do HUJBB. Em especial à biomédica Ana Anaisse e ao biólogo Antonio Modesto, que foram de fundamental importância para a concretização da pesquisa. À Érika Canela e Bruna Duarte, colegas de final de curso, e a todos os acadêmicos, pós-graduandos e funcionários do NPO que sempre colaboraram positivamente diante das dificuldades para a concretização desta obra.

RESUMO

O vírus da hepatite C (VHC) afeta cerca de 130-150 milhões de pessoas no mundo. O sexo, a idade, o tabagismo, o etilismo, a ancestralidade e os polimorfismos genéticos podem interferir na evolução da hepatite C. Investigou-se o papel de polimorfismos funcionais nos genes *NFKB1* (rs28362491), *TYMS* (rs16430), *UCP2* e *SGSM3* (rs56228771) com a evolução desfavorável de pacientes com hepatite C crônica em uma população da região norte do Brasil. Por meio de questionários epidemiológico e clínico, realizou-se um estudo transversal, observacional e descritivo para investigação de polimorfismos. Identificou-se a relação dos mesmos com a evolução desfavorável de 75 pacientes com hepatite C crônica, distribuídos em 2 grupos (com e sem cirrose), que realizam acompanhamento ambulatorial em 2 instituições hospitalares de Belém-PA. Foi utilizado um painel de 48 Marcadores Informativos de Ancestralidade (MIAs) como método de controle genômico no estudo. Revelou-se que o sexo, a idade, o tabagismo, o etilismo e os polimorfismos dos genes *TYMS* e *NFKB1* não apresentam significância estatística sendo, respectivamente: $p=0,775$; $p= 0,070$; $p= 0,404$; $p= 0,498$; $p= 0,565$ e $p=0,809$. Contudo, os polimorfismos dos genes *UCP2* e *SGSM3* e a ancestralidade Africana apresentaram significâncias estatísticas. O incremento de 10% da ancestralidade Africana levou à redução de 0,571 de chance de desenvolver cirrose hepática, conferindo, portanto, um efeito de proteção ($P=0,0417$; OR = 0,429; IC = 95%=0,170-0,898). O genótipo del/del do polimorfismo do gene *UCP2*, foi associado com uma diminuição do risco ($P=0,05$; OR=0,0003; IC95%=0-1,90) e o genótipo del/del do polimorfismo do gene *SGSM3* foi associado ao risco significativo ($P=0,024$; OR= 7,106; IC 95%= 1,295-39,007) de desenvolvimento de cirrose hepática. Conclui-se que a ancestralidade africana e aos polimorfismos dos genes *UCP2* e *SGSM3* estão relacionados à evolução desfavorável de pacientes com hepatite C crônica.

Palavras chave: Hepatite C; Cirrose; *TYMS*; *NFKB1*; *UCP2*; *SGSM3*.

ABSTRACT

The hepatitis C virus (HCV) affects about 130-150 million people worldwide. Sex, age, smoking, ethnicity, ancestry, and genetic polymorphisms may interfere with the progression of hepatitis C. We investigated the role of functional polymorphisms in genes *NFKB1* (rs28362491), *TYMS* (rs16430), *UCP2* and *SGSM3* (rs56228771) with the unfavorable evolution of patients with chronic hepatitis C in a population in the northern region of Brazil. Epidemiological and clinical questionnaires were used to conduct a cross-sectional, observational and descriptive study to investigate polymorphisms. The relationship of these patients with the unfavorable evolution of 75 patients with chronic hepatitis C, in 2 groups (with and without cirrhosis), who underwent outpatient follow-up at two hospitals in Belém-PA, were identified. A panel of 48 Ancestral Information Markers (MIAs) was used as a method of genomic control in the study. It was revealed that the sex, age, smoking, alcoholism and polymorphisms of the *TYMS* and *NFKB1* genes do not present statistical significance, respectively: $p = 0.775$; $p = 0.070$; $p = 0.404$; $p = 0.498$; $p = 0.565$ and $p = 0.809$. However, the polymorphisms of *UCP2* and *SGSM3* genes and African ancestry presented statistical significance. The 10% increase in African ancestry led to a reduction of 0.571 in the chance of developing cirrhosis of the liver, thus conferring a protective effect ($P = 0.0417$, $OR = 0.429$, $CI = 95\% = 0.170-0.898$). The genotype of the polymorphism of the *UCP2* gene was associated with a risk reduction ($P = 0.05$, $OR = 0.0003$, $95\% CI = 0-1.90$) and the genotype of the gene polymorphism *SGSM3* was associated with significant risk ($P = 0.024$, $OR = 7.106$, $95\% CI = 1,295-39,007$) for developing cirrhosis of the liver. It is concluded that the African ancestry and the polymorphisms of the *UCP2* and *SGSM3* genes are related to the unfavorable evolution of patients with chronic hepatitis C.

Keywords: Hepatitis C; Cirrhosis; *TYMS*; *NFKB1*; *UCP2*; *SGSM3*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Taxa de detecção de hepatite C segundo sexo, razão de sexos e ano de notificação. Brasil, 2002 a 2015.	3
Figura 2 - Vírus da hepatite C.	4
Figura 3 - Genoma do vírus da hepatite C (VHC).	5
Figura 4 - História natural da hepatite C.....	10
Figura 5 - Representação de mistura interétnica individual.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação METAVIR para hepatites crônicas.	8
Tabela 2 - Classificação de Child-Pugh.	17
Tabela 3 - Características demográficas e clínicas nos pacientes com hepatite crônica C com e sem cirrose hepática.	37
Tabela 4 - Perfil de sinais e sintomas de doença hepática crônica apresentados por pacientes com e sem cirrose, atendidos no HUIBB e Santa Casa, em 2015.	38
Tabela 5 - Perfil de sinais e sintomas gerais apresentados por pacientes com e sem cirrose, atendidos no HUIBB e Santa Casa, em 2015.	39
Tabela 6 - Distribuição das frequências genótípicas do NFKB1, TYMS, CGM03, UCP2 entre pacientes com e sem cirrose, atendidos no HUIBB e Santa Casa, em 2015.	40
Tabela 7 - Distribuição categórica de ancestralidade africana em pacientes com hepatite C, com e sem cirrose hepática.	42
Tabela 8 - Odds ratio e intervalos de confiança para a ancestralidade africana.	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Anti- VHC Anticorpos contra VHC

APVP Anos produtivos de vida perdidos.

AST Aspartato aminotransferase

ALT Alanina Aminotransferase

CEP Colangite esclerosante primária

CHC Carcinoma Hepatocelular

DCs Células dendríticas

DHC Doença hepática crônica

DNAc DNA complementar

EH Encefalopatia hepática

FSCMPA Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará

FA Fosfatase Alcalina

GGT Gamaglutamiltranspeptidase

HSCs Células estreladas hepáticas

HUJBB Hospital Universitário João de Barros Barreto

INDEL Inserção/Deleção

LTs Linfócito c citotóxico

MIAs OU AIMS Marcadores informativos de ancestralidade

MHC Complexo principal de histocompatibilidade.

NFKB1 Nuclear fator of kappa light polypeptide enhancer in B cells 1

PBC Cirrose biliar primária

PCR Reação em cadeia da polimerase

RNA Ácido Ribonucleico

SHR Síndrome Hepatorenal

TCLE Termo de consentimento livre e esclarecido

TFG Taxa de filtração glomerular

TYMS Thymidylate Synthetase

VHC Vírus da hepatite C

LTc Linfócito T citotóxico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. EPIDEMIOLOGIA DA HEPATITE C	1
1.2. TRANSMISSÃO, PATOGENIA, PATOLOGIA, HISTÓRIA NATURAL E DIAGNÓSTICO DA HEPATITE C	4
1.2.1. TRANSMISSÃO, PATOGENIA E PATOLOGIA.....	4
1.2.2. DIAGNÓSTICO.....	8
1.2.3. HISTÓRIA NATURAL.....	10
1.3. CIRROSE HEPÁTICA	13
1.4. CARCINOMA HEPATOCELULAR.....	17
1.4.1. EPIDEMIOLOGIA	18
1.4.2. FATORES DE RISCO	19
1.4.3. DIAGNÓSTICO.....	20
1.5. VARIAÇÕES GENÉTICAS ASSOCIADAS COM DIFERENÇAS NO CURSO CLÍNICO DE HEPATITE C.....	22
1.5.1. GENE <i>TYMS</i>	23
1.5.2. GENE <i>NFKB1</i>	25
1.5.3. GENE <i>UCP2</i>	26
1.5.4. GENE <i>SGSM3</i>	27
1.6. CONTROLE GENÔMICO DE ANCESTRALIDADE.....	28
1.7. APLICABILIDADE DO ESTUDO NA PRÁTICA CLÍNICA.....	29
2. OBJETIVOS.....	30
2.1. OBJETIVO GERAL.....	30

2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
3.	MATERIAL E MÉTODOS	31
2.3.	TIPO E POPULAÇÃO DE ESTUDO	31
2.3.1.	DEFINIÇÃO DE CASO	31
2.3.2.	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	32
2.3.3.	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	32
2.3.4.	COLETA DE DADOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS E LABORATORIAIS	33
2.4.	TESTES IMUNOLÓGICOS E MOLECULARES	33
2.5.	BIÓPSIA HEPÁTICA E COLETA DE SANGUE	33
2.6.	ASPECTOS ÉTICOS	34
2.7.	EXTRAÇÃO DE DNA	34
2.8.	GENOTIPAGEM DOS MARCADORES INFORMATIVOS DE ANCESTRALIDADE	34
2.9.	GENOTIPAGEM DOS POLIMORFISMOS	35
2.10.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	36
3.	RESULTADOS	37
4.	DISCUSSÃO	43
5.	CONCLUSÃO	51
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

1. INTRODUÇÃO

1.1. EPIDEMIOLOGIA DA HEPATITE C

As hepatites virais são enfermidades causadas por cinco vírus diferentes, por isso os sintomas, o tratamento e as formas de contágio são diferentes, por exemplo, a transmissão fecal-oral através de alimentos ou água contaminados (hepatite A e E) ou através da exposição a sangue ou fluidos corporais (hepatite B, C, D) (WHO, 2015).

Segundo World Health Organization (WHO, 2015), as hepatites virais podem ser a causa de óbito de cerca de 1,45 milhões de indivíduos por ano, com cerca de 90% das mortes devido à infecção crônica por VHB e VHC. Já o Ministério da Saúde do Brasil prevê que os óbitos por hepatite C são a maior causa de morte entre as hepatites virais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

A elucidação do agente etiológico da hepatite C só ocorreu em 1989 pela equipe de Choo *et al.*, com a descoberta do Vírus da Hepatite C (VHC). A partir de então, a possibilidade da infecção pelo VHC na prevalência de doenças hepáticas vem ganhando destaque (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

A hepatite C apresenta elevado impacto na saúde pública global. A agressão hepatocelular causada pelo vírus da hepatite C pode levar a fibrose hepática, à cirrose e ao carcinoma hepatocelular. As hepatites virais, em especial a hepatite C, são uma das maiores causas de transplantes hepáticos no mundo. Nas fases avançadas, pode levar a óbito (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

Estima-se, mundialmente, entre 130-150 milhões o número de pessoas com infecção crônica por hepatite C e aproximadamente 700 mil morrem a cada ano de doenças relacionadas a ela (WHO, 2015).

No Brasil, foram notificados 514.678 novos casos de hepatites virais de 1999 a 2015, dos quais 152.712 (29,7%) foram de hepatite C, segundo dados do SINAN. Neste mesmo período, foram detectados 289.459 casos de anti-HCV ou HCV-RNA reagentes e 139.264 casos com ambos os marcadores anti-HCV e HCV-RNA reagentes (64,2% na região Sudeste; 24,2% na região Sul; 5,6% na região Nordeste; 3,2% na região Centro-Oeste e 2,7% na região Norte). Dos óbitos no país, 56.335 foram associados às hepatites virais, de 2000 a 2014, e destes, 75,2% associados à hepatite C (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

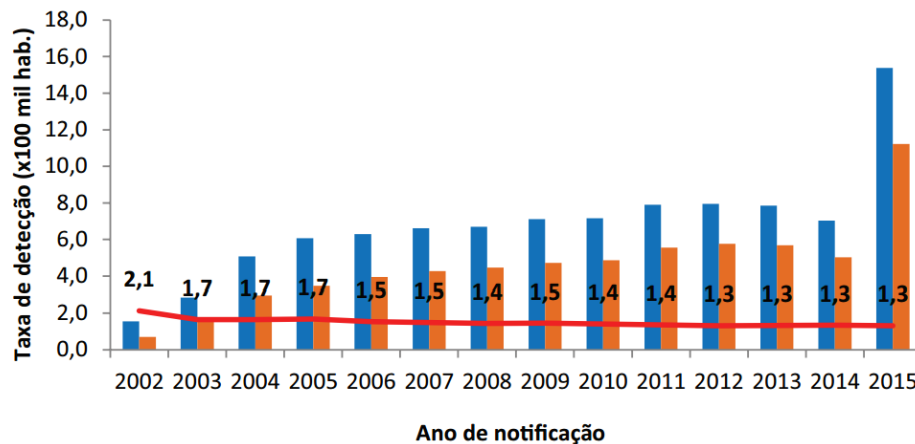
O VHC pode evoluir de forma aguda e crônica. A hepatite aguda, geralmente, é assintomática e cerca de 15-45% das pessoas infectadas curam espontaneamente dentro de 6 meses sem qualquer tratamento. De 55-85% dos infectados irão desenvolver hepatite C crônica, dos quais o risco de desenvolver cirrose hepática está entre 15-30% em 20 anos (WHO, 2015).

Apesar de ainda não existir uma vacina contra a hepatite C, os tratamentos medicamentosos podem curar aproximadamente 90% das pessoas com a infecção. Contudo, o acesso ao diagnóstico e tratamento é baixo (WHO, 2015).

A principal forma clínica dos casos de hepatite C notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan) brasileiro é de portadores crônicos para todas as faixas etárias. O percentual de coinfectados com o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) vem diminuindo no país, em 2007 era 14,4% e, em 2015 são 9,0% dos casos. A maior proporção está na região Sul (11,9%) e a menor proporção está na região Norte (3,0%), conforme dados de 2015. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

Recentemente o Ministério da Saúde do Brasil mudou o critério de confirmação de casos de hepatite C. Com isso foi observado um aumento na taxa de detecção, em ambos os sexos, sendo mais expressiva no período de 2014 para 2015, quando ocorreu a mudança (conforme a Figura 1). A tendência observada é a elevação das taxas de detecção em ambas os sexos e faixas etárias, com ligeiro predomínio na faixa etária de 45 a 54 anos (29,6%) e nos homens (razão de sexos de 1,3) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

Figura 1 - Taxa de detecção de hepatite C segundo sexo, razão de sexos e ano de notificação. Brasil, 2002 a 2015.



Fonte: Ministério da Saúde, Boletim Epidemiológico – Hepatites Virais, Ano V – nº 01, 2016.

Os principais fatores de risco para a infecção pelo VHC, a nível mundial, são o uso inseguro de drogas injetáveis, infecções iatrogênicas devido a reutilização ou esterilização inadequada do equipamento médico e as transfusões de hemoderivados (WHO, 2015).

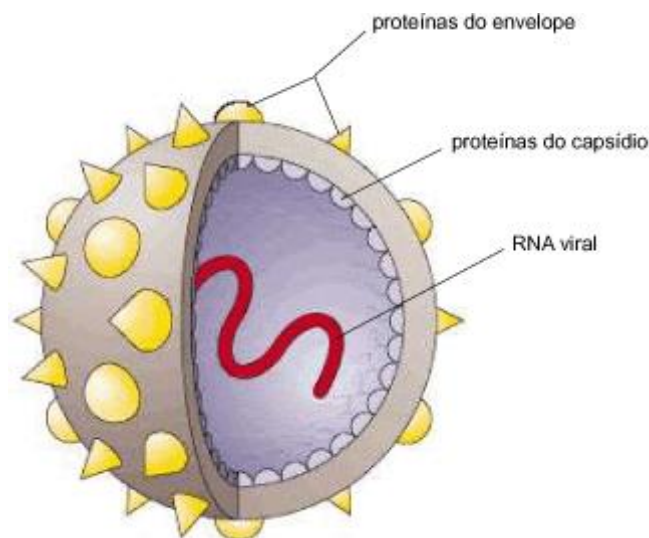
As fontes de transmissão da infecção de hepatite C mais prováveis no país no ano de 2015 são o uso de drogas (26,7%), exposição sexual (25,0%) e transfusão de hemodivados (19,5%), apesar de o próprio Ministério da Saúde brasileiro reconhecer que “existe um percentual significativo de casos em que não se conhece a forma de transmissão” (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

1.2. TRANSMISSÃO, PATOGENIA, PATOLOGIA, HISTÓRIA NATURAL E DIAGNÓSTICO DA HEPATITE C

1.2.1. TRANSMISSÃO, PATOGENIA E PATOLOGIA

O vírus da hepatite C pertence a família *Flaviviridae*, possui genoma em fita simples e positiva (STRAUSS, 2001). Mundialmente, o vírus da hepatite C afeta cerca de 130-170 milhões de pessoas (2,2 a 3,0%) (TENGAN, 2016).

Figura 2 - Vírus da hepatite C.



Fonte: Strauss (2001).

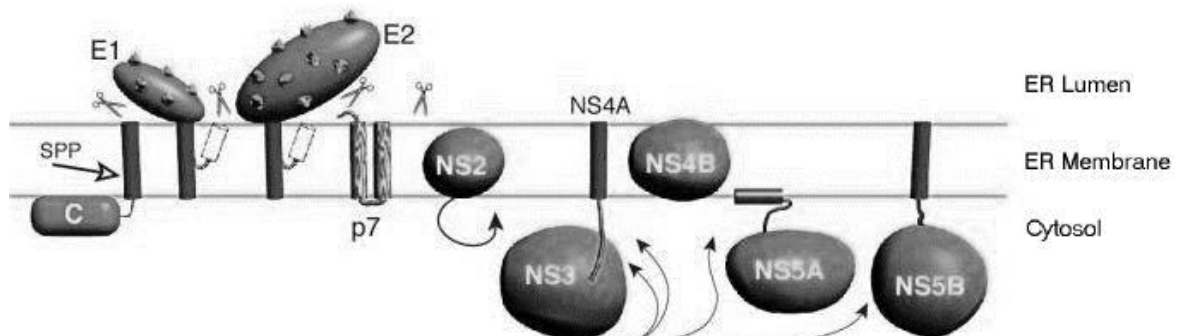
O VHC é agente causal de mais de 90% de hepatites pós-transfusionais no Brasil, provavelmente porque só a partir de 1993 que o teste sorológico (anti-VHC) passou a ser obrigatório para candidatos a doadores de sangue. (STRAUSS, 2001).

A transmissão sexual é uma das formas não parenterais de transmissão da hepatite C (STRAUSS, 2001) e a ocorrência de coinfeção com HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana) têm sido relatadas porque HCV e HIV compartilham os mesmos mecanismos de transmissão (TENGAN, 2016). O estudo de Tedaldi e

colaboradores (TEDALDI *et al.*, 2003) mostrou que os indivíduos coinfectados com HIV/HCV não tem risco aumentado, estatisticamente, para a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), doença renal ou doença cardíaca, contudo a probabilidade de desenvolver cirrose é maior assim como há maior proporção de morte neste grupo.

Considerando-se aspectos epidemiológicos, é de relevância também a coinfeção do VHC com o Vírus da Hepatite B (VHB), pois compartilham vias de transmissões comuns (principalmente parenteral) além de notória correlação em áreas endêmicas. Estes pacientes com dupla infecção de VHB/VHC têm maior risco de progressão para cirrose e doença hepática descompensada (KONSTANTINO, D. & DEUTSCH, M., 2015).

Figura 3 - Genoma do vírus da hepatite C (VHC).



Fonte: EuHCVdb. Disponível em (<https://euhcvdb.ibcp.fr/euHCVdb/>). Acessado em 07 de março de 2016.

As hipóteses mais recentes admitem que o vírus por si só parece não interromper as funções celulares e causar a morte da célula. É provável, portanto, que a diversidade da evolução e das alterações hepáticas no homem sejam preponderantemente determinadas pela resposta imune aos antígenos virais. Estes mecanismos envolvendo aspectos humorais e celulares explicariam também as manifestações extra-hepáticas observadas (STRAUSS 2001).

A reatividade do fígado à presença dos vírus da hepatite C (VHC) pode causar respostas patológicas, onde o agente infeccioso escapa da

eliminação imune e persiste no hepatócito. O reconhecimento imune e a destruição dos hepatócitos infectados levam ao desenvolvimento de hepatite. Nas hepatites pelo VHC, a ligação da proteína do envelope do VHC à molécula CD81 na superfície da célula alvo parece ser a primeira interação entre o vírus e a célula do hospedeiro (STRAUSS 2001). Os LTc (Linfócito T citotóxico) são um importante mecanismo de defesa na infecção crônica, sendo a atividade citotóxica efetuada principalmente por meio de apoptose. A produção de anticorpos, usualmente específicos para a proteína do envelope, é fundamental para a neutralização de partículas virais livres e para impedir a entrada de vírus nas células do hospedeiro. Ressalta-se que o VHC pode apresentar estratégias para interferir no seu reconhecimento pelo sistema imune. As mutações de proteínas virais e formação de *quasispecies*, as interferências na ativação do complemento, na produção de anticorpos e na síntese de IFN- α e IFN- β , e a inibição do transporte de moléculas MHC de classe I para a membrana da célula infectada, entre outros, representam algumas das principais estratégias de evasão, favorecendo a persistência de infecções crônicas (BURT *et al.*, 2007).

Nas hepatites crônicas pelo vírus C, o dano hepático crônico é, portanto, precedido por um processo necroinflamatório que pode ser seguido de fibrose, sendo as etapas para seu desenvolvimento e sua resolução: dano celular; inflamação; alteração da função das células endoteliais e estreladas hepáticas; acúmulo de matriz extracelular e degradação e reabsorção da matriz extracelular. Autores têm descrito possíveis genes reguladores da fibrose que interfiram nessa evolução desfavorável para cirrose (CHEVILLARD *et al.*, 2003; HENRI *et al.*, 2002), sendo ela considerada resultante do desequilíbrio entre a síntese e a degradação da matriz extracelular (LAMIREAU *et al.*, 2002; VALKOVA, 2002) e promovida por vários mecanismos patogênicos.

As interações entre as várias populações de células residentes no fígado e células imunes são complexas e não totalmente entendidas. Hepatócitos, ductos biliares, componentes da circulação, da inervação e da matriz extracelular são algumas das estruturas envolvidas no desenvolvimento da lesão hepática. Essas estruturas têm relação anatômica e funcional indissociável e, portanto, as lesões são desencadeadas por uma rede multifatorial (FRIEDMAN, 2004). Devido à sua

localização, as células estreladas (*Hepatitis C Stellate Cells* – Células Estreladas da Hepatite C = HSC) interagem rapidamente com os processos citoplasmáticos das células vizinhas – hepatócitos, células endoteliais sinusoidais, células de Kupffer e outras células do sistema imunitário (FRIEDMAN; ARTHUR, 2002). Essa localização facilita interações parácrinas, que são essenciais para a manutenção da homeostasia do fígado e sua resposta fibrótica à agressão hepática. No decorrer de uma lesão hepática crônica, as células estreladas podem modificar sua forma e alterar toda a produção dos componentes da matriz extracelular. Em resumo, as HSCs fazem contato com outras células vizinhas, facilitando o transporte intercelular de mediadores solúveis e citocinas e mantêm conexões diretas com as terminações nervosas, fenômeno importante para a vasorregulação mediada pelo sistema nervoso (FRIEDMAN; ARTHUR, 2002; ZHANG *et al.*, 2004).

A hepatite crônica é definida como uma doença necroinflamatória que se estende por um período superior a seis meses (BURT *et al.*, 2007). Apesar da semelhança histopatológica entre as diferentes etiologias das hepatites, foram realizadas considerações para a hepatite causada pelos vírus da hepatite C (VHC).

A biópsia hepática é padrão ouro para a correta graduação da atividade necroinflamatória e representa o método padrão para estadiamento da fibrose na hepatite crônica (GIANNINI; RISSO; TESTA, 2001; MARCELLIN; ASSELAH; BOYER, 2002), sendo utilizado o histopatológico com atividade necroinflamatória de moderada a intensa e/ou presença de fibrose de moderada a intensa, pelas classificações METAVIR (BRASIL, 2007). Dentre as várias classificações histopatológicas propostas, a mais simples do é a do grupo METAVIR, facilmente empregada na rotina diagnóstica é a mais utilizada internacionalmente. A classificação METAVIR avalia a atividade histológica através da somatória de necrose em saca-bocado (atividade periportal) e a necrose lobular com graduação padronizada de 0 a 3 e fibrose com pontuação atribuída de 0 a 4 (Tabela 1) (BEDOSSA, POYNARD, 1996).

Tabela 1 - Classificação METAVIR para hepatites crônicas.

Atividade: A			
Necrose lobular**			
Necrose periportal*	Ausente ou mínima (0)	Moderada (1)	Ausente (2)
Ausente (0)	A0	A1	A2
Mínima (1)	A1	A1	A2
Moderada (2)	A2	A2	A3
Acentuada (3)	A3	A3	A3
Fibrose: F			
Ausência de fibrose			F0
Fibrose portal sem septos			F1
Fibrose portal com raros septos			F2
Fibrose portal com vários septos, sem cirrose			F3
Cirrose			F4

Fonte: Bedossa e Poynard (1996). Notas:

*Necrose periportal: mínima: focal em torno de alguns espaços porta; moderada: difusa em torno de alguns espaços porta ou focal em torno de todos os espaços porta; acentuada: difusa em torno de todos os espaços porta (BEDOSSA; POYNARD, 1996).

**Necrose lobular: ausente ou mínima: menos de um foco por lóbulo; moderada: pelo menos um foco por lóbulo; acentuada: vários focos por lóbulo ou necrose em ponte ou confluyente (BEDOSSA; POYNARD, 1996).

1.2.2. DIAGNÓSTICO

De acordo com Brandão *et al.*, (2001) para o diagnóstico da Hepatite C utilizam-se testes de rastreamento que tem alta sensibilidade e testes suplementares também chamados de confirmatórios com maior especificidade. Quanto aos testes de rastreamento, destaca-se o ELISA que tem como vantagem a rapidez no processamento, facilidade de automação, alta confiabilidade e custo relativamente baixo. Este teste utiliza proteínas recombinantes para a captação do anti-VHC e tem três gerações sendo que a primeira geração não é mais utilizada, pois tem como ponto negativo o fato de que em grupos com baixa prevalência de infecção como os doadores de sangue, apenas 30 a 50% dos que tem resultado positivo no ELISA tem a infecção confirmada por teste de maior especificidade como o RIBA e a PCR (*Polymerase Chain Reaction* – Reação em Cadeia de Polimerase). A segunda geração (ELISA II) tem incorporadas as proteínas c22-3 e c33-c do VHC. De modo que esta última proteína foi fusionada com o antígeno c1000-3 para formar a

proteína c 200. A principal vantagem sobre o ELISA I é o fato de que em grupos de baixo risco de infecção pelo VHC, como os doadores de sangue, aumentou tanto a sensibilidade quanto a especificidade reduzindo a taxa de falso - positivo para 40 a 50%. O teste ELISA de terceira geração (ELISA III) é constituído de antígenos recombinantes para captura de anticorpos e com adição de um antígeno da região NS5, tem como principal vantagem a redução do tempo médio de soro-conversão que passou de 7 a 8 semanas além do aumento da sensibilidade.

Quanto aos testes suplementares, a especificidade indica a proporção de indivíduos com resultado negativo estando a infecção ausente (padrão ouro negativo). Como exemplo tem-se o teste RIBA que tem 3 gerações sendo que o RIBA I não é mais utilizado. Vale ressaltar que os testes suplementares não são considerados confirmatórios, pois tem os mesmos antígenos presentes nos testes ELISA; contudo, tem maior especificidade por identificar anticorpos e antígenos individuais. São testes empregados na avaliação diagnóstica de pessoas com baixa probabilidade de infecção pelo VHC e com reação positiva ao teste ELISA (STRAUSS, 2001).

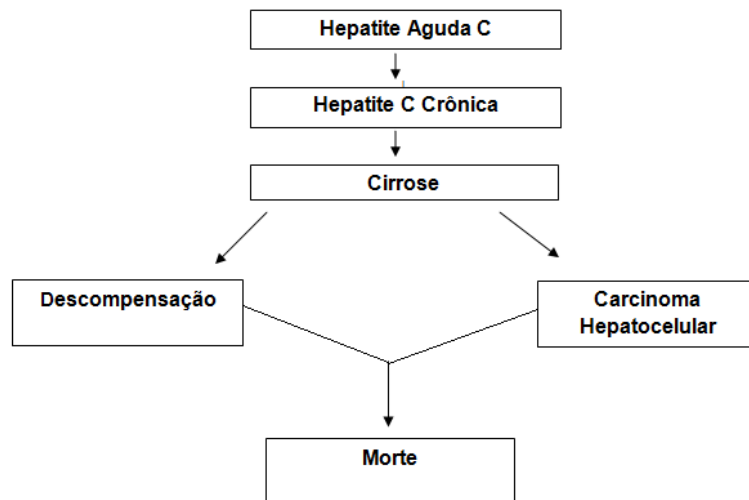
De todas as investigações laboratoriais, a mais importante é a determinação do RNA do VHC que é considerado o padrão ouro para o diagnóstico de infecção pelo VHC com utilização da PCR tanto para testes qualitativos como quantitativos. Os testes qualitativos informam se há ou não o RNA viral. A reação em cadeia de polimerase com a enzima transcriptase reversa tem grande sensibilidade para detectar o RNA do VHC, utilizando-se, em seguida a PCR para amplificar DNAc (DNA complementar) com produção de quantidade necessária para análise mediante o uso de gel agarose. Os testes quantitativos abrangem 2 técnicas de biologia molecular para a quantificação do VHC; uma utiliza a tecnologia do PCR e a outra a do DNA ramificado que tem como base a ramificação à amplificação de um sinal e não do DNA alvo, como ocorre na PCR (STRAUSS, 2001).

1.2.3. HISTÓRIA NATURAL

Vários fatores parecem influenciar fortemente a progressão para fibrose e cirrose hepática: idade superior a 40 anos no momento da infecção, sexo masculino, etilismo, coinfeção com o Vírus da Hepatite B (VHB) e /ou HIV, imunossupressão, esteatose hepática (Brasil. Ministério da Saúde, 2011).

Inclui-se ainda síndrome metabólica com resistência insulínica e obesidade como fatores para progressão para cirrose, influenciando a evolução e história natural da hepatite C (FIGURA 4). Os fatores virais são menos importantes, nem a carga viral e nem os genótipos parecem influenciar no prognóstico da doença (MASSARD *et al.*, 2006; MISSIHA; OSTROWSKI; HEATHCOTE, 2008).

Figura 4 - História natural da hepatite C.



Fonte: Mchutchison & Bacon (2005).

1.2.3.1. ALCOOLISMO

Considerando que a principal causa de CHC é a ocorrência de cirrose, necessário se faz analisar o grau de participação do consumo de álcool na incidência desta morbidade, visto que esta substância aumenta o risco de CHC através do desenvolvimento da cirrose (CONTE, 2007).

Alguns estudos têm sugerido que quando o álcool é consumido abusivamente (> 80g/d) durante pelo menos 5 anos, isto favorece ao aumento do risco de ocorrência de CHC em 5 vezes. A intensidade do consumo de álcool pode ser calculada através da média do consumo diário em gramas, fazendo-se uma comparação com níveis estabelecidos na literatura para 70g por semana para mulheres e 140 g por semana para homens. Pode-se considerar um consumo frequente quando consome-se álcool semanalmente com níveis iguais ou superiores aos valores estabelecidos acima; e consumo eventual quando os valores são abaixo dos referidos valores. Quem não ingere bebida alcoólica são denominados simplesmente não consumidores (DUFOR, 1999).

Vale ressaltar que o risco de desenvolver o CHC é proporcional à quantidade de álcool consumido. Um estudo japonês observou que o consumo de álcool maior que 600 litros durante toda a vida proporciona um aumento de 5 vezes o risco de CHC comparando-se com não bebedores ou com aqueles que consumiram menos de 600 litros de álcool (GOMES *et al.*, 2013).

O risco de ocorrer CHC é desconhecido para os indivíduos que consomem baixo ou moderado nível de álcool. Contudo, Moia *et al.*, (2004) apresentam a relevância do interesse voltado para a temática visto que em estudo realizado em um hospital de referência em hepatopatias, o alcoolismo revelou-se como principal causa de hepatopatia crônica, predominando em 53,8% dos casos, de modo que associado com o vírus da hepatite B e C ocorre a piora do prognóstico e aceleração da progressão da doença.

Thiel e Ramadori (2011) apresentam a proposta de que existe uma associação entre polimorfismos genéticos de enzimas que atuam no metabolismo do etanol e o aumento do risco de CHC para quem tem um grande consumo de álcool. Um dos principais efeitos do consumo de álcool a longo prazo é sobre DCs (células dendríticas) importantes na geração de respostas imunitárias a proteínas virais *in vivo*; em especial na produção de citocinas; por outro lado o consumo crônico de álcool pode afetar a absorção de antígeno, degradação, processamento e transporte de peptídeos à superfície da célula. Desta forma, as DCs correspondem a componentes celulares do sistema imunitário que apresentam fragilidade para os efeitos crônicos do alcoolismo. Isto permite melhor compreensão quanto à contaminação e persistência do VHC, possibilitando a existência de estratégias imunológicas para a erradicação da infecção pelo VHC. A resposta imunológica contra VHC também é afetada pelo álcool pelo comprometimento do proteossoma o qual tem ação enzimática e age degradando 80% de proteínas intracelulares.

1.2.3.2. TABAGISMO

O tabagismo desencadeia efeitos patogênicos, podendo-se destacar sua ação imunorreguladora que tem por consequência o prejuízo da resposta de cicatrização de feridas. Quanto à progressão de doenças crônicas hepáticas, o tabagismo tende a acelerar a progressão da fibrose hepática em pacientes com hepatite C crônica, podendo diminuir a eficácia antiviral da terapia. O consumo do Tabaco é considerado um fator independente para o desenvolvimento de CHC e pode ser calculado pela média do consumo diário levando em consideração que cada cigarro feito a mão equivale a 5 cigarros manufacturados. Os fumantes podem ser classificados em fumantes frequentes (5 ou mais cigarros por dia), fumantes eventuais (menos de 5 unidades por dia) e não fumantes (sem consumo). (PELETEIRO *et al.*, 2008).

O tabagismo pode induzir a insuficiência imunológica pelo aumento do apoptose de linfócitos, desfavorecendo o efeito da terapia com interferon. Pouco conhecidos são também os mecanismos desencadeados pelo fumo que levam à fibrogênese, contudo, pode-se relacioná-los com a própria fumaça do cigarro que contém substâncias com potencial hepatotóxico como a nicotina, o que favorece a produção de citocinas pró-inflamatórias, além de induzir o estresse oxidativo, diminuindo a defesa antioxidante com consequente peroxidação lipídica e aumento do dano hepatocelular; com ativação de células estreladas, havendo proliferação e aumento da produção da quantidade da matriz extracelular (SMYK *et al.*, 2012; ALTAMIRANO, BATTALER, 2010).

A deposição de ferro é outro mecanismo pelo qual o consumo de tabaco leva o fígado à fibrogênese. Esta deposição de ferro é intimamente relacionada com a policitemia secundária causada pelo fumo, visto que o tabaco leva à uma restrição de oxigenação com o aumento do monóxido de carbono o que interfere no transporte de oxigênio, havendo excesso da produção do hormônio eritropoietina, que leva a um aumento da rotatividade (maior renovação celular) de hemácias e consequente aumento do ferro sérico. Ressalta-se que a redução do ferro sérico, pode levar à melhor resposta ao tratamento com interferon (SAEED, A. E. Z. *et al.*, 2004).

1.3. CIRROSE HEPÁTICA

A cirrose hepática, caracterizada por subversão difusa da arquitetura hepática normal por nódulos de hepatócitos em regeneração circundados por tecido conjuntivo, é o estágio final comum de várias hepatopatias crônicas de causas variadas, sobretudo alcoolismo e hepatites virais (BURT *et al.*, 2007).

Consideráveis morbidade e mortalidade estão associadas com a cirrose o que ocasiona diversas manifestações clínicas características atribuíveis à insuficiência hepática e à hipertensão portal caracterizando uma cirrose descompensada; como, por exemplo, ascite, insuficiência renal, sangramento gastrointestinal, encefalopatia hepática, infecções bacterianas, coagulopatias e carcinoma hepatocelular (DESMET; ROSKAMS, 2004; AFDHAL, 2004; SUK, 2012).

Em um estudo realizado no Brasil em 1997 foram estimados os anos produtivos de vida perdidos (APVP) prematuramente em decorrência da cirrose (entre 20 e 59 anos de idade) de forma que a taxa bruta de mortalidade por cirrose foram maiores nas regiões sudeste e norte. O indicador Anos Produtivos de Vida Perdidos (APVP) prematuramente, revela o valor social da morte, e a necessidade de se operacionalizar sua análise, pois quando a morte ocorre em uma etapa que tem grande potencial para produzir, a mesma não atinge somente o indivíduo ou quem convive com ele, mas a coletividade sofre diretamente o impacto visto que subtraído é seu potencial em matéria econômica e intelectual. Além de tudo, o indicador de causas de morte prematura converge com o objetivo da saúde pública, colaborando para que haja a prevenção de danos à saúde; no caso da mortalidade, com ações tendentes a postergar a morte (CÔRTEZ; SOUZA, M. L., 1999).

É importante destacar que as curvas de mortalidade de cirrose por idade para os homens mostram uma estabilização ou diminuição após os 60 anos, exceto no Norte do país, onde a curva continua a subir. Por outro lado, a curva de mortalidade por cirrose para mulheres também sobe progressivamente, com o aumento da idade, de forma mais acentuada nas regiões Norte e Nordeste. Necessário se faz informar que a mortalidade por cirrose do fígado responde por 48,7% das mortes causadas por distúrbios do sistema digestivo entre os homens e 24,1% dessas mortes entre mulheres. O APVP médio por pessoa afetada revelou-se maior para homens e mulheres do Norte e para as mulheres no Centro-oeste do que era nas outras regiões. Nos países em desenvolvimento, pouco se conhece sobre a epidemiologia da cirrose; mas certamente é uma das cinco principais causas de morte entre as faixas etárias produtivas em pelo menos 12 países da Américas (CARVALHO, 2014).

Por muitas vezes a cirrose é descoberta de modo incidental, com exames de imagem solicitados para investigação de outra doença. No início da doença o fígado pode estar aumentado, enquanto em estágio avançado o tamanho do fígado diminui.

A cirrose pode ser compensada e descompensada. A primeira caracteriza-se pela ausência de sintomas ou presença de sintomas mínimos; algumas vezes o paciente pode apresentar disfunção hepatocelular e hipertensão portal, incluindo sangramento de varizes gastresofágicas, ascite, sintomas neuropsiquiátricos e icterícia progressiva. Na cirrose descompensada, ascite é a complicação mais frequente, sendo causada por uma vasodilatação esplâncnica que é decorrente da síntese aumentada de vasodilatadores (óxido nítrico) (SUK KT, 2012; BITTENCOURT, 2005).

A avaliação das manifestações clínicas tanto da cirrose compensada, quanto da descompensada direciona à necessidade de exames complementares. Os exames laboratoriais geralmente revelam anormalidades referentes aos níveis séricos de aspartato aminotransferase (AST) que costuma estar elevado. Quanto a Alanina Aminotransferase (ALT), pode ocorrer uma relativa redução de seus níveis séricos. O tempo de protrombina sérica frequentemente está aumentado o que leva à síntese reduzida de fatores de coagulação, em especial, os fatores dependentes de vitamina K. A deficiente síntese hepatocelular leva à subtração nos níveis séricos de albumina. É importante destacar que em indivíduos com cirrose em estágio avançado ocorre o aumento sérico de gamaglobulina total devido a função reticuloendotelial estar comprometida e da elevação dos níveis sanguíneos de produtos bacterianos. A Fosfatase Alcalina (FA) apresenta um moderado aumento, exceto em pacientes que apresentam doença biliar como CBP e CEP (Cirrose biliar primária e Colangite esclerosante primária) os quais tem além da FA aumentada, o aumento de gamaglutamiltranspeptidase (GGT). Também há achados relacionados com anemia, leucopenia, trombocitopenia e elevados níveis séricos de creatinina e uréia, e hiponatremia, especialmente em pacientes com ascite (BITTENCOURT, 2005).

Quanto aos exames de imagem, Ultrassonografia (US) é o exame mais indicado para demonstrar características morfológicas da cirrose como os contornos hepáticos nodulares ou irregulares; alguma estrutura alterada e sinais da presença de hipertensão porta como as veias portocolaterais, de modo que sua combinação com a US com Doppler de fluxo colorido amplia sua colaboração para os achados do exame. Alterações como esteatose hepática, ascite, esplenomegalia e trombose de veia porta também podem ser detectadas por US. Além de todas as utilidades da US já citadas, é importante destacar sua colaboração para detectar de tumores hepáticos como CHC pois permite a demonstração de vascularização tumoral através do doppler e/ou injeção de contraste, estabelecendo diferenças entre nódulo regenerativo e CHC. A utilização de TC (Tomografia computadorizada) e RM (ressonância magnética) é limitada pelo fator custo. A Elastografia Hepática Transitória através do Fibroscan avalia o grau de rigidez hepática com base na velocidade de uma onda elástica, possibilitando diferenciar a cirrose de uma fibrose mais leve, podendo prever o grau de hipertensão porta. Este exame tem como limitação a obesidade mórbida, ascite e espaços intercostais estreitos (CASTERA; FORNS; ALBERTI, 2008; SUK KT, 2012).

Fontes *et al.*, (1998) destacam a possibilidade de avaliação do prognóstico da cirrose através da classificação de Child-Pugh. Esta classificação emprega critérios clínicos e três critérios laboratoriais. Cada critério é pontuado entre 1-3, sendo a condição mais grave pontuada em 3. Após a análise desses critérios, parte-se da pontuação dos mesmos para a classificação de Child-Pugh que apresenta classes de A a C; conforme Tabela 2.

Tabela 2 - Classificação de Child-Pugh.

Pontuação			
Crítérios	1 ponto	2 pontos	3 pontos
Bilirrubina total (mg/dl)	<2	2-3	>3
Albumina sérica (g/dl)	>3,5	2,8-3,5	<2,8
TP(s)/INR	1-3/<1,7	4-6/1,7-2,3	>6/2,3
Ascite	Nenhuma	Leve	Moderada/grave
Encefalopatia Hepática	Nenhuma	Grau I-II (ou suprimida com medicação)	Moderada/grave Grau III-IV (ou refratária)
Sobrevida			
Pontos	Classe	Sobrevida em 1 ano	Sobre vida em 2 anos
5-7	A	100%	85%
7-9	B	81%	57%
10-15	C	45%	35%

Fonte: Manual de perícia médica do ministério da saúde –II edição (2015).

1.4. CARCINOMA HEPATOCELULAR

O carcinoma hepatocelular (CHC), tumor derivado das células epiteliais do fígado, os hepatócitos, é a quinta neoplasia maligna mais frequente em todo o mundo (5% de todos os casos de câncer registrados) e a terceira causa de morte associada ao câncer. Representa cerca de 80% dos casos de neoplasias malignas hepáticas em adultos e 35% em crianças. Cerca de 700.000 novos casos de CHC são diagnosticados em todo o mundo, anualmente, com o percentual de letalidade chegando a 95% (PAZGAN-SIMON *et al.*,2015). O CHC, agora, é a complicação mais comum e a principal causa de morte em pacientes com cirrose hepática compensada (CARRILLO *et al.*, 2015). No Brasil, segundo estimativas do

GLOBOCAN, em 2020 haverá cerca de 13.041 novos casos de CHC, com um número de óbitos estimados em 12.842 (FERLAY *et al.*, 2014).

1.4.1. EPIDEMIOLOGIA

A distribuição do CHC varia de acordo com a localização geográfica. A doença é mais prevalente em áreas com infecção endêmica pelo vírus da hepatite B (HBV), onde a prevalência do HBsAg é maior que 8%, como a África Subsaariana e na Ásia Oriental, com taxas de incidência de mais de 20 casos para cada 100.000 indivíduos. Países mediterrânicos, como a Itália, Espanha e Grécia têm incidência intermediária de 10-20 casos para cada 100.000 habitantes, enquanto que nas Américas, a incidência de CHC é relativamente baixa, com menos de 5 casos para cada 100.000 indivíduos (MITTAL; EL-SERAG, 2013).

O Brasil é considerado um país com baixa incidência de carcinoma hepatocelular. Um estudo realizado em um hospital universitário, na cidade de São Paulo, relatou uma incidência anual de CHC de 3,5% em pacientes cirróticos. Dados nacionais obtidos a partir da análise de 1.405 pacientes, com diagnóstico de CHC, de 29 centros regionais demonstraram que a idade média de acometimento foi de 59 anos, onde 78% eram do gênero masculino. A cirrose hepática esteve presente em 98% dos casos e a infecção crônica pelo Vírus da Hepatite C (VHC) foi a etiologia mais comum (54%), seguido pela infecção pelo HBV (16%) e pelo alcoolismo (14%) (CARRILLO *et al.*, 2015).

1.4.2. FATORES DE RISCO

A maioria dos casos de CHC se desenvolve em pacientes com doença hepática crônica e os fatores de risco dependem da região geográfica estudada. O VHC é o principal fator de risco na Europa, no Japão e na América do Norte (50% -70%), seguido pelo álcool (20%) e pelo o HBV (10% a 15%). Na Ásia e na África, a infecção pelo HBV está associada a 70% dos casos de CHC enquanto o VHC a 20%. O Diabetes Mellitus e a obesidade, compreendidos dentro da Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA), são fatores de risco independentes de CHC, assim como uso do tabaco. Além disso a presença de co-infecção HIV/HBV ou HIV/VHC mostra-se como importante fator predisponente ao desenvolvimento do carcinoma hepatocelular, já que esta associação promove a progressão da doença hepática mais rapidamente do que em indivíduos sem HIV (TEJEDA-MALDONADO, 2015).

A cirrose hepática é o principal fator de risco para o desenvolvimento de CHC, onde cerca de 30% -35% de todos os pacientes com cirrose desenvolverão esta neoplasia no decurso da sua doença, que pode ser devida às hepatites virais crônicas, a doença hepática alcoólica, às doenças metabólicas hereditárias, como a Doença de Wilson e a hemocromatose, à hepatite autoimune e Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica. Estima-se que o risco de desenvolvimento de CHC, anualmente, nos pacientes com cirrose hepática está em torno de 1% a 8%, de acordo com a etiologia de base (PASCUAL; HERRERA; IRURZUN, 2016).

1.4.3. DIAGNÓSTICO

A abordagem diagnóstica do carcinoma hepatocelular é multidisciplinar e inclui análise radiológica, clínica e laboratorial, com a realização de biópsia hepática, em alguns casos. Nos estágios iniciais, o CHC apresenta-se de forma silenciosa, tornando difícil o diagnóstico clínico. O fígado tem reservas funcionais consideráveis, o que justifica as manifestações inerentes ao espectro hepático, como a icterícia não aparecerem até que uma grande parte do órgão seja substituído pelo tumor. Além disso, não há sintomas patognomônicos e, como resultado, o quadro clínico é extremamente variável e o paciente pode ser completamente assintomático. Alguns pacientes podem apresentar perda de peso, astenia, sensação de plenitude pós-prandial ou uma massa palpável em abdome superior. Estes sintomas muitas vezes relacionam-se a presença de uma lesão hepática avançada (ATTWA, 2015).

O rastreio dos pacientes para o CHC é recomendado em populações de alto risco, a fim de diminuir a mortalidade associada à esta neoplasia. Infelizmente, a maioria dos casos detectados são diagnosticados em estágios avançados uma vez que menos de 20% dos pacientes com cirrose são rastreados, principalmente nos países subdesenvolvidos. As recomendações de triagem para o carcinoma hepatocelular incluem: pacientes com cirrose de qualquer etiologia, com função hepática preservada (Child-Pugh A e B), sem comorbidades graves; pacientes com cirrose descompensada (Child-Pugh C) em uma lista de espera de transplante; paciente com infecção crônica pelo HBV, sem cirrose e com a hepatite ativa ou uma história familiar de CHC e, por fim, paciente com infecção por VHC não cirrótico e fibrose hepática avançada (F3) (TEJEDA-MALDONADO, 2015).

Os métodos de rastreamento utilizados na população de alto risco são a ultrassonografia e a quantificação sérica da alfafetoproteína. Recomenda-se a realização da USG abdominal duas vezes ao ano, neste grupo, já que é um método não invasivo, encontra-se facilmente disponível e tem baixo custo, além de apresentar uma sensibilidade entre 60%-80% e uma especificidade maior que 90%. A quantificação sérica da alfafetoproteína, assim como qualquer marcador tumoral sorológico, tem seu uso limitado. Apesar de mais sensível que outros

biomarcadores, com um ponto de corte de 10,9 ng/ml, o seu rendimento diagnóstico é inferior ao da USG, já que apresenta uma sensibilidade mais elevada, apenas, na presença de tumores em estágios avançados, o que inviabiliza, na maioria das vezes, o tratamento curativo (TEJEDA-MALDONADO, 2015).

Segundo diretrizes recentes propostas pela Associação Europeia para o Estudo do Fígado (EASL), pela Associação Ásia-Pacífico para o Estudo do Fígado (APASL) e pela Associação Americana para o Estudo de Doenças do Fígado (AASLD), das várias ferramentas para o diagnóstico de CHC, atualmente disponíveis, o estudo imagiológico desempenha um papel vital na definição de doença hepatocarcinogênica e na caracterização do tumor. Sabe-se que hepatocarcinogênese é um processo de várias etapas. Os dois eventos principais relacionados ao processo de desenvolvimento do tumor são: alterações morfofuncionais progressivas e mudanças sequenciais do suprimento sanguíneo intranodular, caracterizadas pela diminuição da oferta de sangue portal e pelo aumento do número de artérias anômalas. Estas modificações podem ser detectadas e caracterizadas por meio da USG, da Tomografia Computadorizada sem contraste (TC) e da Ressonância Nuclear Magnética sem contraste (RNM), assim como o uso do contraste, nessas técnicas, auxilia na caracterização das alterações funcionais apresentadas pelo CHC (YOU *et al.*, 2015).

As lesões nodulares hepáticas observadas a partir de uma análise ultrassonográfica, podem apresentar-se de forma hipo ou hiperecótica, porém essas apresentações são inespecíficas, no que tange o diagnóstico de CHC. Suspeita-se de carcinoma hepatocelular na presença de lesão focal > 1 cm, em fígado cirrótico. A USG abdominal identifica tumores de até 1cm de diâmetro, assim como avalia a permeabilidade de estruturas vasculares e a existência de adenopatias no hilo hepático. A USG oferece também muitos sinais que aumentam a suspeita de transformação maligna no fígado, como a presença de trombose venosa intra-hepática, massa proeminente a partir da superfície de Glisson ou ducto biliar intra-hepático dilatado (ATTWA, 2015).

Atualmente, a tomografia computadorizada por perfusão multifásica é a técnica de escolha para o diagnóstico de CHC com um excelente desempenho na detecção precoce de lesões focais hepáticas. É composto por quatro fases subsequentes: fase pré-contraste, fase arterial hepática, fase portal e, por fim, a fase tardia. Do ponto de vista anatômico, a artéria hepática fornece o principal fluxo sanguíneo para os tecidos tumorais, devido à sua aparência hipervascular durante toda a fase arterial. Por outro lado, durante toda a fase tardia devido ao *washout* precoce do contraste as nodulações caracterizadas como CHC's aparecem hipodensas, observando-se, assim, que as imagens na fase tardia podem ajudar a confirmar o diagnóstico de CHC em 14% dos pacientes (ATTWA, 2015).

1.5. VARIAÇÕES GENÉTICAS ASSOCIADAS COM DIFERENÇAS NO CURSO CLÍNICO DE HEPATITE C

São conhecidos fatores de risco associados com a evolução desfavorável da hepatite crônica C como a idade avançada no momento da infecção, doenças hepáticas coexistentes, sexo masculino, abuso de álcool, obesidade, diabetes e esteatose, entre outros (POYNARD, T. BEDOSSA, P., OPOLON, P. *et al.*, 1997; ADINOLFI *et al.*, 2001). No entanto, mesmo levando em conta todos esses fatores de evolução da doença, a taxa de progressão para fibrose avançada é altamente variável entre os indivíduos, sugerindo, assim, que fatores genéticos atribuídos a cada indivíduo podem desempenhar um papel importante na progressão da fibrose e evolução desfavorável como cirrose hepática e carcinoma hepatocelular (POWELL *et al.*, 2000; TRÉPO *et al.*, 2011).

Entre os possíveis genes candidatos, a literatura tem investigado o papel de polimorfismos nos genes *TYMS* (*Thymidylate Synthetase*), *NFKB1* (*Nuclear Factor of Kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1* ou NF-kappa-B1), *UCP2* (*Mitochondrial uncoupling proteins 2*) e *SGSM3* (*Small G protein signaling modulator 3*) que colaboram para que ocorram diferenças no curso da infecção pelo VHC.

Variações genéticas nesses genes têm sido associadas ao risco de câncer hepatocelular e progressão de fibrose em pacientes com hepatites crônicas (SAITO *et al.*, 2004; YUAN *et al.*, 2007; HE Y *et al.*, 2009; BENHAMOUCHE S, *et al.*, 2010; AYYASAMY V. *et al.*, 2011; STUDACH *et al.*, 2012).

1.5.1. GENE *TYMS*

O gene *TYMS*, está localizado no braço curto do cromossomo 18, na região 18p11.32. Este gene é formado por sete éxons (KANEDA *et al.*, 1990). A enzima timidilato sintase (TS) é relacionada ao ciclo do folato, um componente muito importante encontrado na alimentação a partir da ingestão de ácido fólico, sua forma mais estável. O folato possui relação com vias e processos bioquímicos essenciais para a vida, atuando como um cofator para enzimas envolvidas na biossíntese de purinas e pirimidinas, timidilato e reações de metilação (BALUZ *et al.*, 2002). Assim, durante o ciclo do folato, nucleotídeos podem ser incorporados para a síntese e o reparo de DNA.

Estudos experimentais têm demonstrado que as dietas deficientes em grupos metilo (metionina, ácido fólico, colina) podem induzir carcinoma hepatocelular em roedores (MIKOL *et al.*, 1983; NAKAE *et al.*, 1992), além de induzir quebras na estrutura do DNA no gene p53 em hepatócitos (POGRIBNY *et al.*, 1995), juntamente com o aumento de uracila no DNA. A timidilato é um nucleótido que limita a velocidade necessária para a síntese de DNA e reparação. Assim, um conjunto suficiente de timidilato é essencial para minimizar a incorporação errada de uracil no DNA, ruptura cromossômica, e indução de sítio frágil, levando a susceptibilidade reduzida à HCC (HORI *et al.*, 1985). O gene *TYMS* produz uma enzima TS, que catalisa a conversão de desoxiuridinamonofosfato (dUMP) para desoxitimidinamonofosfato (dTMP).

Até o momento não existem estudos que definam a relação desta enzima com processos inflamatórios, fibrose e cirrose hepáticas. Contudo, com a realização de várias pesquisas, pode-se afirmar que a enzima TS é a única fonte de timidilato intracelular para a síntese de DNA e que a inibição da TYMS, que está envolvida na síntese de pirimidina, interrompe a síntese de DNA e retarda a replicação das células cancerosas, incluindo carcinoma hepatocelular (KAWAKAMI *et al.*, 1999).

A expressão de TS é parcialmente controlada por um polimorfismo. Uma sequência de repetição em tandem (TSER) de 28pb da região não traduzida do gene *TYMS* é polimórfica e pode ser responsável pela expressão diferencial da enzima. O VNTR está localizado na 5'UTR da região promotora do gene *TYMS* (TSER), resultando em alelos com dois (TSER*2) até nove (TSER*9) cópias de uma sequência repetida de 28pb (HORIE *et al.*, 1995). Repetições duplas (TSER*2) e tripla (TSER*3) são as variações polimórficas mais comuns (MARSH *et al.*, 1999). *In vitro*, em comparação com a TSER*2, o TSER*3 foi associado com expressões maiores da atividade da enzima TS (KAWAKAMI *et al.*, 1999).

Mais recentemente, um segundo polimorfismo no gene *TYMS*, uma inserção/deleção (INDEL) de 6 pares de base (pb), rs16430, no nucleótido 1494 na região não traduzida 3'UTR do gene (*TYMS3'UTR*) foi identificada (ULRICH *et al.*, 2000). As consequências funcionais do presente polimorfismo não são conhecidas, embora se pense que afeta a expressão e a estabilidade do mRNA do *TYMS* (ULRICH *et al.*, 2000; MANDOLA *et al.*, 2004). A deleção de 6 pb parece estar em desequilíbrio de ligação com o alelo TSER*3 (ULRICH *et al.*, 2000). Esse polimorfismo foi relacionado a susceptibilidade de vários tipos de câncer, incluindo de mama (GUAN *et al.*, 2013) e gástrico (SHEN *et al.*, 2014).

1.5.2. GENE *NFKB1*

O gene *NFKB1* (nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1 ou NF-kappa-B1) está localizado no braço longo do cromossomo 4, na região 4q24 e codifica um regulador de transcrição (p50), fazendo parte da família NF-kB. Fator Nuclear (NF) -kB é um importante fator de transcrição para manter a função normal do sistema imunológico; a ativação inadequada NF-kB pode mediar a inflamação e tumorigênese (WANG S *et al.*, 2010; ABDALLAH *et al.*, 2003). Em uma condição não estimulada, NF-kB é sequestrado no citoplasma e inibe a ativação da transcrição, ligando-se a inibidores de NF-kB (IκB). Uma vez que as proteínas IκB são fosforilada e degradadas, NF-kB é posteriormente libertada e posterior translocada para o núcleo, onde a transcrição de genes é iniciada (GILMORE, 2003).

A ativação de NF-kB é raramente observada em células normais, exceto para a proliferação de células T, células B, tímócitos, monócitos e astrócitos, ao mesmo tempo que é constitutivamente ativo na maioria das células tumorais (AGGARWAL, 2004; PACIFICO & LEONARDI, 2006). Em CHC, a expressão hepática do NF-kB também é constitutivamente ativada em amostras de tecido de HCC em comparação com os tecidos circundantes do fígado (QIAO *et al.*, 2006; YOKOO *et al.*, 2011).

Polimorfismos funcionais no gene *NFKB1* estão associados a diminuição dos níveis de transcrição. Um polimorfismo funcional importante é uma deleção de 4 pb, na posição -94 do início da transcrição do gene (*rs28362491*) que já foi associada ao maior risco de adquirir doenças inflamatórias (LÓPEZMEJÍAS *et al.*, 2012; STEGGER *et al.*, 2013) que incluem a endometriose grave e a infertilidade idiopática (BIANCO *et al.*, 2012; ARISAWA *et al.*, 2013); e a doença pulmonar obstrutiva crônica (HUANG *et al.*, 2013). Além disso, esse polimorfismo também vem sendo associado positivamente a alguns tipos de câncer, incluindo câncer gástrico (ARISAWA *et al.*, 2013), câncer colorretal esporádico (MOHD SUZAIRI *et al.*,

2013) câncer ovariano (FAN Y *et al.*, 2011) carcinoma renal (CAI H *et al.*, 2013).

Sabe-se que mediadores inflamatórios atuam no microambiente tumoral, assim como também atuam os fatores de transcrição como o NF-KB na regulação deste microambiente (GRIVENNIKOV, GRETEN, 2010; KARIN, 2009).

Diferente do gene *TYMS*, o gene *NFKB* tem sua relação com processo inflamatório e com fibrose hepática fundamentada por vários estudos os quais relatam que a inflamação não estaria associada com doença crônica do fígado, embora promova a progressão da doença. A atividade de NFKB tem funções celulares diferentes que interferem na sobrevivência de hepatócitos e células de Kupffer em inflamação. Esta funcionalidade leva à conclusão de que NFKB tem grande importância na regulação de aspectos centrais de hepatopatias crônicas bem como nas respostas para cicatrização de feridas podendo-se chegar à resolução da doença ou à fibrose do órgão e a HCC (KOSTERS, KARPEN, 2010; OKUDA, 2000).

No trabalho desenvolvido por Cheng CW *et al.*, (2013) o alelo inserção de 94 pb do gene *NFKB1* foi associado a um maior risco de desenvolver CHC em pacientes tailandeses.

1.5.3. GENE UCP2

O Gene *UCP 2* (*Mitochondrial uncoupling proteins 2*) tem sua localização citogenética em 11q13.4. Contem 8 exons e abrange 8 Kb. Ressalta-se que os exons 1 e 2 não são traduzidos. Suas principais atividades envolvem suas propriedades que agem em quadros de diabetes e obesidade, com a possibilidade da existência de polimorfismos que contribuem para a obesidade através do efeito sobre o metabolismo de energia. Tem importante efeito sobre o potencial de membrana mitocondrial expresso em levedura e, quando comparado com UCP 1, tem maior expressão em tecidos humanos adultos como os que são ricos em macrófagos (FLEURY *et al.*, 1997; WALDER *et al.*, 1998; PECQUEUR *et al.*, 1999).

Considerando-se que a cirrose é uma doença crônica do fígado que tem como característica a fibrose e a formação de nódulos que bloqueiam a circulação sanguínea e que tem como causas infecções ou inflamação crônica hepática; válida e importante é a relação entre o gene *UCP2* com a cirrose hepática, visto que estudos já demonstraram que sendo a expressão de *UCP 2* acentuada em órgãos como baço, pulmão e macrófagos isolados, o mesmo teria um papel importante na imunidade ou na capacidade de resposta inflamatória. Além do que *UCP* (família de desacoplamento) tem como função modular por subtração ROS (espécies reativas de oxigênio que é subproduto natural do metabolismo normal de oxigênio); que está envolvido na regulação da sobrevivência das células, fato que o relaciona com a progressão de câncer, em especial no carcinoma hepatocelular, pois *UCP2* tem sobre regulação em várias linhas celulares desse tipo de câncer (LEE IK *et al.*, 2004).

1.5.4. GENE *SGSM3*

Este gene tem localização citogenética em 22q13.1. A análise estrutural do gene *SGSM3* (Small G protein signaling modulator 3) revela 22 exons (YANG *et al.*, 2007).

SGSM3 também é conhecida como proteína Merlin-associado e pertence a uma família de proteínas constituída por 3 membros estando associada e podendo regular pequenas proteínas G (GPCRs) através de receptores acoplados na mesma controlando suas funções celulares. Proteínas Gs intermediam a transmissão do sinal entre os receptores acoplados às proteínas Gs e efetores múltiplos, tais como enzimas e canais iônicos (FARFEL, BOURNE, LIRI, 1999; YANG *et al.*, 2007). A cooperação entre Merlin e *RUTB3* (Anticorpo Policlonal por Western Blot) proporciona a melhora para a supressão do crescimento celular (LEE IK *et al.*, 2004).

A análise de polimorfismos no gene em estudo direciona a questionamentos referentes ao aspecto oncológico, visto que há polimorfismo relacionado com a redução do risco de HCC assim como com o aumento do risco para HCC. Logo, há a hipótese de que fatores genéticos regulam a expressão de *SGSM3*, podendo colaborar para a suscetibilidade individual para HCC (CIPOLLIN, LANDI, GEMIGNANI, 2014).

1.6. CONTROLE GENÔMICO DE ANCESTRALIDADE

O controle genômico é particularmente importante nas amostras que serão investigadas, pois foi estimado na população do Norte brasileiro um elevado grau de subestruturamento populacional que justifica a utilização deste controle em estudos de associação com doenças. Desta maneira, é importante empregar tecnologias capazes de realizar um controle genômico entre casos e controles. Quantificando individualmente a proporção de mistura entre as populações ancestrais para logo corrigir o provável efeito do subestruturamento populacional na amostra investigada (SANTOS *et al.*, 2010).

Uma ferramenta importante que pode ser empregada nestas análises são os Marcadores Informativos de Ancestralidade (MIAs), também chamados de “marcadores população-específicos” (PARRA *et al.*, 2003).

Para atingir o objetivo proposto o presente trabalho utilizará um painel de 48 Marcadores Informativos de Ancestralidade (MIAs), capazes de estimar com precisão a mistura individual e global interétnica em populações miscigenadas com diferentes grupos étnicos (SANTOS *et al.*, 2010).

1.7. APLICABILIDADE DO ESTUDO NA PRÁTICA CLÍNICA

O vírus da hepatite C (VHC) é um importante agente patogênico humano que causa as doenças agudas e crônicas do fígado em todo o mundo. A maioria dos pacientes com infecção VHC não elimina o vírus e desenvolve hepatite crônica com um risco de progressão para cirrose ou carcinoma hepatocelular. Os fatores genéticos atribuídos a cada indivíduo pode desempenhar um papel importante na infecção pelo VHC e as respostas imunitárias subsequentes (MAASOUMY *et al.*, 2012).

Dessa forma, a investigação de polimorfismos nos genes *NFKB1* (*rs28362491*), *TYMS* (*rs16430*), *UCP2* e *SGSM3* (*rs56228771*) que são, respectivamente, relacionados com a resposta imune e processo inflamatório e com a estabilidade genômica e morte celular; poderia proporcionar melhor entendimento quanto ao envolvimento destes genes no processo de evolução da hepatopatia crônica com consequente alcance do quadro de cirrose hepática (F4). Deste modo, há a possibilidade de se identificar grupos de pacientes com maior risco de evolução clínica desfavorável da doença hepática.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Investigar o papel de polimorfismos funcionais nos genes *NFKB1* (*rs28362491*), *TYMS* (*rs16430*), *UCP2* e *SGSM3* (*rs56228771*) com a evolução desfavorável de pacientes com hepatite C crônica em uma população da região norte do Brasil.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar e comparar a frequência de polimorfismos nos genes *NFKB1* (*rs28362491*), *TYMS* (*rs16430*), *UCP2* e *SGSM3* (*rs56228771*) entre pacientes com hepatite C crônica sem cirrose e sem carcinoma hepatocelular e pacientes com cirrose hepática.

2. Determinar os polimorfismos nos genes *NFKB1* (*rs28362491*), *TYMS* (*rs16430*), *UCP2* e *SGSM3* (*rs56228771*), associando-os com o perfil clínico e epidemiológico dos pacientes com hepatite C crônica.

3. Aplicar um conjunto Multiplex de 48 Marcadores Informativos de Ancestralidade (MIAs) do tipo INDEL (Inserção/Deleção) para realizar o controle genômico de ancestralidade na amostra estudada.

3. MATERIAL E MÉTODOS

2.3. TIPO E POPULAÇÃO DE ESTUDO

Trata-se de estudo transversal, observacional e descritivo. A pesquisa foi realizada na cidade de Belém, Pará, em pacientes atendidos consecutivamente, e regularmente matriculados no Programa de Hepatopatias Crônicas, Grupo do Fígado da Santa Casa de Misericórdia do Pará (Grupo do Fígado-FSCMPA), e no Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUJBB), no período de agosto de 2014 a janeiro de 2015, subdivididos em subgrupos:

- Pacientes com hepatite C crônica, sem cirrose hepática e sem carcinoma hepatocelular (n= 19).
- Pacientes com cirrose hepática por VHC (n= 56).

2.3.1. DEFINIÇÃO DE CASO

Foram considerados pacientes com infecção crônica pelo VHC, aqueles que apresentaram anti-VHC reagente e VHC-RNA por PCR detectável por mais de seis meses desde a detecção da infecção. Dentro dos parâmetros de apresentação clínica e de outros exames complementares, os pacientes foram definidos como:

- **Hepatite crônica:** além dos critérios acima, sintomático ou não, com ou sem diagnóstico histopatológico de hepatite crônica;

- **Cirrose:** aqueles com os critérios supracitados e com exames complementares (laboratoriais, endoscópicos e ou ultrasonográficos) sugestivos de cirrose, na presença ou não de sinais e sintomas de insuficiência hepática e/ou hipertensão porta, e/ou exame histopatológico de cirrose;

- **Carcinoma hepatocelular (CHC):** pacientes que apresentaram sinais e sintomas sugestivos com diagnóstico por 2 exames de imagem (USA, TC ou RNM) ou 1 exame de imagem sugestivo de CHC e alfafetoproteína ≥ 400 ng/ml ou com elevações progressivas acima dos valores superiores da normalidade.

2.3.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Pacientes de ambos os sexos, idade superior a 18 anos, que atendam a definição de infecção crônica pelo VHC.

2.3.3. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Pacientes portadores de outras doenças hepáticas crônicas genéticas e metabólicas (deficiência de α -1-antitripsina, hemocromatose, doença de Wilson, doença de Gaucher, mucoviscidose); autoimunes (cirrose biliar primária, hepatite autoimune, colangite esclerosante primária); hepatopatias tóxicas e medicamentosas; pacientes coinfectados com HIV e grávidas.

2.3.4. COLETA DE DADOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS E LABORATORIAIS

Foram coletados e avaliados dados epidemiológicos, clínicos e laboratoriais por meio de protocolos adaptados do *International Liver Cancer Study*, que foram aplicados no momento da consulta.

2.4. TESTES IMUNOLÓGICOS E MOLECULARES

Os testes sorológicos e moleculares qualitativos e a genotipagem do VHC foram realizados no Laboratório de Sorologia e de Biologia Molecular da Seção de Hepatologia do Instituto Evandro Chagas.

2.5. BIÓPSIA HEPÁTICA E COLETA DE SANGUE

Os pacientes que no momento da investigação não apresentavam o diagnóstico histopatológico foram submetidos a biópsia hepática, com as devidas indicações. Os pacientes que consentiram foram submetidos a coleta de 10 ml de sangue periférico no momento da consulta de rotina.

2.6. ASPECTOS ÉTICOS

Todos os pacientes foram informados acerca do desenvolvimento, dos objetivos e da relevância da pesquisa, e foram incluídos no projeto após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), redigido segundo normas da Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUIBB (CAAE: 30499714.9.0000.0017/nº do parecer: 637.230).

2.7. EXTRAÇÃO DE DNA

A extração do DNA realizada a partir de 200µL de sangue periférico pelo kit comercial de DNA BIOPUR KIT EXTRAÇÃO MINI SPIN PLUS (Biopur®, Reinach, Suíça). A concentração do DNA foi estimada, empregando o espectrofotômetro NanoDrop™ ND-1000 (Thermo Scientific). Posteriormente, o DNA foi armazenado no freezer -80°C no Laboratório de Biologia Molecular do Núcleo de Pesquisas em Oncologia da UFPA.

2.8. GENOTIPAGEM DOS MARCADORES INFORMATIVOS DE ANCESTRALIDADE

As análises de ancestralidade foram realizadas conforme descrito por Santos *et al.*, 2010 utilizando 48 marcadores informativos de ancestralidade (AIMs). Três reações de PCR multiplex com 16 marcadores de cada um foram realizadas, e os produtos de amplificação de PCR foram analisados por electroforese utilizando o

sequenciador ABI Prism 3130 e software v.3.2 GeneMapper ID. As proporções de ancestralidade individuais de Europeu, Africano e ameríndio, foram estimadas usando software STRUCTURE v.2.3.3, assumindo três populações parentais (Europeu, Africano e Ameríndios).

2.9. GENOTIPAGEM DOS POLIMORFISMOS

A amplificação dos polimorfismos foi realizada em um termociclador ABI Verity (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). O sistema de genotipagem por PCR utilizou o kit QIAGEN Multiplex PCR (QIAGEN, Germany): 5.0 µL de QIAGEN Multiplex PCR Master Mix, 1.0 µL de Q-solution, 1.0 µL de Mix dos primers, 2.0 µL de água, e 1.0 µL de DNA. As amostras foram incubadas a 95°C por 15', seguindo de 35 ciclos de 94°C por 45", 60°C por 90" e 72°C por 1', com a extensão final de 70°C por 30'. Para análise de eletroforese capilar (análise de fragmento), 1.0 µL do produto da PCR foi adicionado a 8.5 µL de formamida deionizada HI-DI (Applied Biosystems, Foster City, CA) e 0.5 µL de GeneScan 500 LIZ tamanho padrão (Applied Biosystems, CA, USA). Os fragmentos de DNA foram separados utilizando-se o analisador genético ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems, CA, USA) e analisados com o programa GeneMapper ID v.3.2 (Applied Biosystems, CA, USA).

2.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as análises estatísticas foram realizadas empregando o Programa Estatístico SPSS v.20.0 (SPSS, Chicago, IL. EUA). Comparações de grupos para as variáveis categóricas foram testadas dois a dois pelo teste Qui-quadrado de Pearson, enquanto que o teste t de Student foi utilizado para a análise de variáveis contínuas. Para a comparação do índice de ancestralidade entre as amostras foi utilizado o teste de Mann-Whitney. Odds ratio (OR) e intervalos de confiança (IC=95%) também foram calculados. Todos os testes estatísticos foram baseados em uma probabilidade bicaudal e um p valor $\leq 0,05$ foi considerado significativo.

3. RESULTADOS

Dos 75 pacientes com hepatite C incluídos no estudo, 19 (25, 3%) apresentavam cirrose hepática. A tabela 5 mostra as características demográficas e clínicas dos pacientes com hepatite C, com e sem cirrose. A média de idade (\pm desvio padrão) no grupo com cirrose foi $61,722 \pm 7,797$ e no grupo sem cirrose foi $56,490 \pm 11,152$. O sexo masculino foi predominante nos dois grupos, com e sem cirrose, $n=13$ e $n=36$, respectivamente. Tabagismo e etilismo foram mais frequentes no grupo sem cirrose, mas assim como sexo e idade, a diferença entre os grupos não foi estatisticamente significativa ($p>0,05$). Quanto à ancestralidade genética, a ancestralidade africana evidencia-se por sua significância estatística com P valor = 0,034. A presença de diabetes não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Tabela 3).

Tabela 3 - Características demográficas e clínicas nos pacientes com hepatite crônica C com e sem cirrose hepática.

Características	Com cirrose (n=19) No. (%)	Sem cirrose (n=56) No. (%)	P valor
Sexo (F/M)	5/13	18/36	0,775
Idade ^a	$61,722 \pm 7,797$	$56,490 \pm 11,152$	0,070
Tabagismo	13(72,2)	32(58,2)	0,404
Etilismo	16(88,9)	44(80)	0,498
Diabetes	7(58,3)	42(82,3)	0,1175
Ancestralidade genética ^b			
Europeu	$0,451 \pm 0,273$	$0,443 \pm 0,189$	0,418
Ameríndio	$0,239 \pm 0,089$	$0,276 \pm 0,131$	0,457
Africano	$0,175 \pm 0,074$	$0,258 \pm 0,112$	0,034

^aValores são expressos como média (\pm DP=desvio padrão). Significância determinada pelo teste t de Student.

^bValores são expressos como média. Significância determinada pelo teste de Mann-Whitney.

No que diz respeito a presença de sinais e sintomas de doença hepática crônica, constatou-se proporção semelhante para pacientes com e sem cirrose, não sendo observada diferença estatisticamente significativa.

Dos pacientes com cirrose hepática (19), a maioria (14/82,35%) apresentou encefalopatia hepática (Tabela 4).

Tabela 4 - Perfil de sinais e sintomas de doença hepática crônica apresentados por pacientes com e sem cirrose, atendidos no HUUJBB e Santa Casa, em 2015.

Sintoma		Sem Cirrose % (n)	Com Cirrose % (n)	P valor
Icterícia	Não	30,19(16)	47,06(8)	0,2458
	Sim	69,81(37)	52,94(9)	
Prurido	Não	28,30(15)	47,06(8)	0,2344
	Sim	71,70(38)	52,94(9)	
Urina escura	Não	22,64(12)	29,41(5)	0,7458
	Sim	77,36(41)	70,59(12)	
Sangramento	Não	13,21(7)	17,65(3)	0,2429
	Sim	86,79(46)	82,35(14)	
Hepatomegalia	Não	19,15(9)	31,25(5)	0,4871
	Sim	80,85(38)	68,75(11)	
Esplenomegalia	Não	15,22(7)	31,25(5)	0,2681
	Sim	84,98(39)	68,75(11)	
Ascite	Não	18,87(10)	35,29(6)	0,1913
	Sim	81,13(43)	64,71(11)	
Circulação Colateral	Não	28,30(15)	9,09(1)	0,2650
	Sim	71,70(38)	90,91(10)	
Eritema Palmar	Não	5,00(2)	18,18(2)	0,1994
	Sim	95,00(38)	81,82(9)	
Telangiectasia	Não	0,00(0)	11,11(1)	0,1915
	Sim	71,70(38)	88,89(8)	

Nota: *Teste Exato de Fisher: $p < 0,05$ - diferenças significativas.

Os principais sinais e sintomas gerais, dos pacientes com e sem cirrose, estão descritos na tabela 7.

Tabela 5 - Perfil de sinais e sintomas gerais apresentados por pacientes com e sem cirrose, atendidos no HUJBB e Santa Casa, em 2015.

Sintomas		Sem cirrose % (n)	Com cirrose % (n)	P valor
Alteração do estado geral	Não	15,09(8)	29,41(5)	0,2800
	Sim	84,91(45)	70,59(12)	
Dor abdominal	Não	37,74(20)	47,06(8)	0,5741
	Sim	62,26(33)	52,94(9)	
Anorexia	Não	22,53(13)	41,18(7)	0,2233
	Sim	75,47(40)	58,82(10)	
Náuseas	Não	33,96(18)	41,18(7)	0,7718
	Sim	66,04(35)	58,82(10)	
Vômitos	Não	28,30(15)	35,29(6)	0,7617
	Sim	71,70(38)	64,71(11)	
Perda Ponderal	Não	54,72(29)	52,94(9)	1,0000
	Sim	45,28(24)	47,06(8)	
Febre	Não	18,87 (10)	17,65(3)	1,0000
	Sim	81,13 (43)	82,35(14)	
Caquexia	Não	9,43 (5)	11,76(2)	0,4871
	Sim	90,57 (48)	88,24(15)	

Nota: *Teste Exato de Fisher: $p < 0,05$ - diferenças significativas.

A distribuição alélica e genotípica dos polimorfismos no gene *TYMS*, *NFK β 1*, *SGSM3* e *UCP2* entre o grupo com e sem cirrose hepática é apresentado na (Tabela 8). As análises foram realizadas por regressão logística multivariada (ajustado para ancestralidade africana). Não foi encontrado diferença estatisticamente significativa na distribuição dos genótipos homozigotos para a deleção dos polimorfismos dos genes *TYMS* e *NFK β 1* entre os grupos com e sem cirrose hepática ($p > 0,05$). Para o polimorfismo do gene *UCP2* o genótipo del/del foi associado com uma significativa diminuição do risco de desenvolver cirrose hepática ($P = 0,05$; $OR = 0,0003$; $IC95\% = 0-1,90$). O genótipo del/del do polimorfismo do gene *SGSM3* foi associado a um risco significativo de desenvolver cirrose hepática. Pacientes que apresentaram esse genótipo tiveram um risco sete vezes maior de desenvolver cirrose hepática em relação aos que apresentaram outros genótipos ($P = 0,024$; $OR = 7,106$; $IC95\% = 1,295-39,007$).

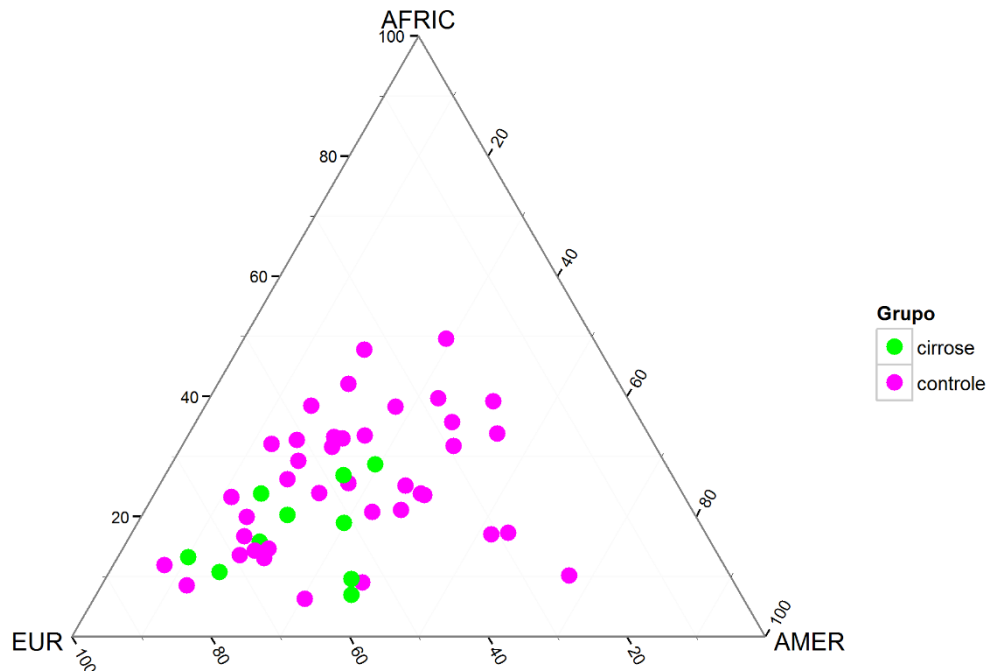
Tabela 6 - Distribuição das frequências genotípicas do NFKB1, TYMS, CGM03, UCP2 entre pacientes com e sem cirrose, atendidos no HUIBB e Santa Casa, em 2015.

Características	Com cirrose No. (%)	Sem cirrose No. (%)	P valor ^a	OR(IC95%) ^a
TYMS rs16430	19	56		
Ins/Ins	8(42,1)	23(41,1)		1
Ins/Del	9(47,4)	22(39,3)		1
Del/Del	2(10,5)	11(19,6)	0,565	Del/Del vs. outros: 1,793(0,245-13,085)
Alelo Ins	0,658	0,607		
Alelo Del	0,342	0,393		
NFKβ1 rs28362491	18	56		
Ins/Ins	4(22)	18(32,1)		1
Ins/Del	7(38,9)	23(41,1)		1
Del/Del	7(38,9)	15(26,8)	0,809	Del/Del vs. outros: 0,819(0,163-4,125)
Alelo Ins	0,417	0,527		
Alelo Del	0,583	0,473		
UCP2	19	56		
Ins/Ins	3(15,8)	6(10,7)		1
Ins/Del	2(10,5)	24(42,9)		1
Del/Del	14(73,7)	26(46,4)	0,05	Del/Del vs. outros: 0,0003(0-1,190)
Alelo Ins	0,210	0,321		
Alelo Del	0,790	0,679		
SGSM3 rs56228771	19	56		
Ins/Ins	4(21,1)	19(33,9)		1
Ins/Del	3(15,8)	27(48,2)		1
Del/Del	12(63,2)	19(33,9)	0,024	Del/Del vs. outros: 7,106(1,295-39,007)
Alelo Ins	0,289	0,420		
Alelo Del	0,711	0,580		

^aRegressão logística ajustada para ancestralidade africana.

Devido à composição triétnica da população investigada, foi realizada uma estimativa de ancestralidade genética individual para investigar a estratificação da população. A proporção de ancestralidade no grupo com cirrose foi de 45% de ancestralidade europeia, 23% de ameríndio e 17% africana. No grupo sem cirrose foi 44% europeia, 27% ameríndio e 25% africana (Figura 5). A proporção de ancestralidade africana foi mais frequente no grupo sem cirrose, com diferença estatisticamente diferente entre os grupos ($p=0,034$).

Figura 5 - Representação de mistura interétnica individual.



Os pacientes com cirrose são representados por pontos em verde e os sem cirrose por pontos em violeta, suas localizações no gráfico correspondem às proporções de mistura interétnica. A mistura é estimada por comparação com populações-mães de indivíduos representados nos vértices do triângulo: Europeia (EUR), ameríndia (AMER) e Africana (AFRIC).

Foi explorada a diferença da ancestralidade africana entre os grupos, com e sem cirrose hepática. Usando incrementos de 10% na ancestralidade africana, foi comparada a distribuição categórica dessa ancestralidade entre os grupos (Tabela 7), e encontramos diferentes distribuições dessa ancestralidade ($p=0,025$).

Tabela 7 - Distribuição categórica de ancestralidade africana em pacientes com hepatite C, com e sem cirrose hepática.

Ancestralidade africana (%)	Cirrose No. (%)	Sem cirrose No. (%)
0-10]	2(20)	3(7,7)
10-20]	4(40)	10 (25,6)
20-30]	4(40)	10(25,6)
30-40]	0	13(33,3)
40-50]	0	3(7,7)
p-Valor	0,025	

Para determinar a influência da ancestralidade africana na progressão da cirrose hepática, foi realizada uma regressão logística univariada (Tabela 10). De acordo com o modelo adotado, a cada aumento de 10% na ancestralidade africana confere uma redução de 0,571 de chances de desenvolver cirrose hepática, conferindo portanto, um efeito de proteção na progressão da cirrose hepática entre os indivíduos com hepatite C ($P=0,0417$; $OR=0,429$; $IC(95\%)=0,170-0,898$).

Tabela 8 - Odds ratio e intervalos de confiança para a ancestralidade africana.

Ancestralidade	Com cirrose media	Sem cirrose media	OR	95% CI	P valor
Africana	0,1749±0,074	0,258±0,112	0,429	0,170- 0,898	0,0417

Odds ratio (OR) e intervalos de confiança 95% (IC) no modelo de regressão logística univariada, assumindo o incremento de 10% da ancestralidade africana entre os grupos.

4. DISCUSSÃO

Conforme já mencionado, o risco de desenvolver o CHC é diretamente proporcional à quantidade de álcool consumido, o que pôde ser evidenciado por um estudo japonês o qual avaliou que o consumo de álcool maior que 600 litros durante toda a vida proporciona um aumento de 5 vezes ao risco de CHC comparando-se com não bebedores ou com aqueles que consumiram menos de 600 litros de álcool (GOMES, 2013).

Segundo estudos já realizados, o sexo feminino teria maior incidência de doenças hepáticas mediadas por toxina em situações como o uso de álcool e de drogas, chegando ao quadro de hepatopatia aguda (BECKER, DEIS, SORENSEN, *et al.*, 1996). Contudo, a cirrose alcoólica tem a frequência reduzida em mulheres, conforme um estudo de base populacional na Dinamarca (JEPSEN, *et al.*, 2012). A reação do organismo ao processo infeccioso pode ser influenciada pelos esteroides sexuais os quais alteram o sistema imunológico em muitos níveis, regulando expressão gênica e alterando a ação de antígenos (WHITACRE, 2001; DONALDSON, 2004). Quanto aos tumores hepáticos, existe diferença de gênero na ocorrência de tumores malignos e benignos, sendo os primeiros mais comuns em mulheres e os malignos mais comuns em homens (WHITACRE, 2001; MANNS, 2010).

Em um estudo realizado na Irlanda, um grupo de mulheres infectadas pelo VHC manifestaram a infecção hepática após 20 anos em um percentual de 41% e o interessante é que de 363 mulheres, 180 tiveram evidências em sua biópsia de fibrose, contudo, somente 2% (7) tinham cirrose provável ou definitiva e somente 2 das 7 informaram consumo excessivo de álcool (LEVINE, 2006). Há estudos que revelam melhor resposta à terapia específica ao VHC em mulheres em comparação com os homens e revelam a menopausa como elemento responsável pela subtração da resposta à terapia (MCHUTCHISON, 2009; CONJEEVARAM, 2006; VILLA, VUKOTIC, CAMMA, *et al.*, 2012).

Uma análise realizada em 2005 pelo *National Center for Health Statistics*, identificou que o número de óbitos de homens acometidos por doença hepática crônica e cirrose seria duas vezes maior do que em mulheres. Porém, as mulheres teriam maior percentual de transplante de fígado, tendo maior possibilidade de morte na lista de espera quando presente a doença em estado terminal (ROGERS, *et al.*, 2010; BURRA, *et al.*, 2013; MOYLAN, *et al.*, 2008).

A relação do tabagismo com a infecção por VHC consiste na evolução do processo inflamatório causado pelo vírus, visto que o uso de tabaco favorece a insuficiência imunológica pelo aumento da apoptose de linfócitos, o que desfavorece, inclusive, o sucesso do tratamento com interferon. Sabe-se, ainda, que a fibrogênese pode estar relacionada com a própria fumaça do cigarro por possuir substâncias hepatotóxicas causando dano hepatocelular (SMYK *et al.*, 2012; ALTAMIRANO, BATTALER, 2010).

A presença de comorbidades é algo que sempre deve ser considerado ao se analisar a evolução clínica da hepatite C crônica, em especial em pacientes que apresentam como agravante a cirrose.

Lida, *et al.*, (2005) caracteriza a cirrose como uma substituição difusa da estrutura hepática normal por nódulos de estrutura anormal circundados por fibrose, definindo-a como o estágio final comum de uma série de processos patológicos do fígado que apresenta diversas causas, como o etilismo, as hepatites crônicas virais e autoimunes assim como causas de ordem metabólica, vascular ou biliar; morbidade que tem sido responsabilizada por 39.889 internações hospitalares em 1997, com um gasto total de R\$11.562.892,57.

Um estudo realizado no intervalo dos anos de 2000 a 2010 no estado do Espírito Santo (Brasil), revela e intensifica a importância de se analisar a evolução clínica dos pacientes que apresentam hepatite C com e sem cirrose; visto que o número médio anual de anos potenciais de vida perdidos por morte por cirrose hepática foi 260,1anos/100.000 para os homens e 79,4 anos/100.000 para as mulheres (5.946 e 1.739 anos potenciais de vida perdidos por ano, respectivamente para homens e mulheres, no período de estudo) de modo que o alcoolismo e a

hepatite viral foram os principais fatores associados em 81,5% (IC 95%: 79,7-83,4) e 15,7% (IC 95%: 17,4-14,0) dos casos, respectivamente (GONÇALVES *et al.*, 2014).

A evolução clínica da cirrose caracteriza-se por ser assintomática, podendo apresentar sintomas inespecíficos como anorexia, perda de peso, fraqueza, osteoporose e outros, podendo ter uma fase avançada o que dificulta o diagnóstico precoce. As ocorrências de óbitos são geralmente consequentes da insuficiência hepatocelular, complicações decorrentes da hipertensão portal ou desenvolvimento de carcinoma hepatocelular (CHC). Quanto à doença hepática crônica criptogênica, pode ter uma progressão para cirrose requerendo uma vigilância clínica por um período indeterminado uma vez que estudos vem apresentando a prevalência de obesidade e diabetes mellitus tipo 2 na cirrose criptogênica superior se compararmos com outras etiologias de cirrose (LIDA *et al.*, 2005; FARIA *et al.*, 2012).

Por outro lado, há estudos que apresentam uma associação entre hepatite C e diabetes tipo 2 através da possível ação do vírus C sobre o metabolismo da glicose desempenhando seu papel fibrosante através da alta concentração de insulina. Ressalta-se que a ocorrência do diabetes tipo 2 na hepatite C não é exclusividade de pacientes cirróticos, de modo que a progressão para diabetes mellitus em pacientes com cirrose avançada tem como causas a resistência a insulina e a reduzida captação hepática de glicose. Sendo a insulina um hormônio regulador da homeostase da glicose, a mesma sofre influência do vírus da hepatite C que promove a resistência à insulina por favorecer o aumento da produção do fator de necrose tumoral alfa (TNF α) que sobre - expresso leva a um grau de fibrose mais severa dificultando a resposta ao tratamento (SCHINONI; OLIVEIRA, 2009).

Diante desta análise, importante se fez identificar a relação genotípica de NFKB1, TYMS, UCP2 e SGSM3, ajustado para ancestralidade africana, a fim de se obter maior entendimento e elementos que subsidiem uma conclusão mais efetiva quanto ao problema do estudo.

O gene *TYMS* (relacionado com a síntese da enzima Timidilato – TS) tem sua importância ao relacionar-se com processos bioquímicos indispensáveis à vida como o ciclo do folato no decorrer do qual o DNA pode ser sintetizado e reparado por incorporação de nucleotídeos (KANEDA *et al.*, 1990; BALUZ *et al.*, 2002).

Há a carência de estudos relacionados com a relação do gene *TYMS* com a evolução desfavorável de hepatopatias, como os processos inflamatórios, fibrose e cirrose; havendo, contudo, vários estudos que evidenciam a ampla relação do gene no retardamento da replicação de células cancerosas como as do carcinoma hepatocelular, através da atuação do timidilato (nucleotídeo) que limita a velocidade necessária para a síntese e reparação de DNA (HORI *et al.*, 1985; KAWAKAMI *et al.*, 1999).

Quanto a evolução desfavorável de hepatopatias, diferente do gene *TYMS*, o gene *NFKB1* apresenta um número considerável de análises em nossa literatura as quais apresentam sua atuação direta nesta ocorrência.

O gene *NFKB1* é um constituinte da família NF-KB que tem sua ativação estimulada por vários fatores o que resulta na resposta inflamatória, imune e na cicatrização de feridas e de apuramento de patógenos através da transcrição de centenas de genes com sítios de ligação KB (PAHL, 1999).

Considerando-se o caráter prejudicial de uma inflamação crônica, NFKB apresenta vários níveis de regulação para sua atividade, de forma que é libertado de seu inibidor IKB, podendo em seguida translocar – se para o núcleo iniciando-se a transcrição de genes (HOFFMANN, NATOLI, GHOSH, 2006; BASAK *et al.*, 2007). Estudos tem fundamentado a possibilidade de que a inflamação não está somente relacionada com a cronicidade da doença hepática, mas promove também a progressão da doença, com um aumento de 80% dos casos de HCC em pacientes com cirrose hepática e fibrose (OKUDA, 2000; KARIN, 2009; MENCIN, KLUWE, SCHWABE, 2009; KOSTERS, KARPEN, 2010; WASMUTH, TACKE, TRAUTWEIN, 2010). No início da ocorrência de HCC, há uma ativação de NFKB sejam as etiologias virais ou não virais, havendo uma associação com fenótipo transformado no decorrer da hepatocarcinogênese. Pode-se detectar, ainda, NFKB no fígado infectado com VHC, e uma vez a doença esteja avançada, há o aumento dos níveis

de LPS com ativação de NFkB no fígado (TAI *et al.*, 2000; LIU P *et al.*, 2002; SHI *et al.*, 2005).

Apesar da grande relevância dos estudos referentes aos genes TYMS e NFkB1, os quais enfatizam a relação destes genes com o processo evolutivo das hepatopatias; em nosso estudo não foi encontrado diferença estatisticamente significativa na distribuição dos genótipos homozigotos para a deleção dos polimorfismos destes genes entre os grupos com e sem cirrose hepática ($p > 0,05$). Há a possibilidade de que o número de participantes analisados na pesquisa (75) tenha influenciado nos resultados da análise dos genes *TYMS* e *NFkB1*, o que pode direcionar à necessidade de se desenvolver estudos com o número maior de amostras.

Contudo, mesmo com um número de amostra igual a 75, obteve-se neste estudo resultados satisfatórios referentes aos genes UCP2 e SGSM3.

O gene *UCP2* tem uma íntima relação com a glutamina visto que esta ativa a tradução de UCP2, de modo que a glutaminólise tende a colaborar com o seu silenciamento, o que interfere na evolução clínica de muitas doenças já que UCP2 tem atuação importante na imunidade, na capacidade de resposta inflamatória e na carcinogênese (LEE IK *et al.*, 2004; CHENG T *et al.*, 2011).

A glutamina é um aminoácido não essencial (pode ser sintetizado pelo organismo), em grande quantidade no tecido muscular e no plasma. É capaz de agir em muitas funções e vias de sinalização celular (CURI *et al.*, 2005). As principais funções da glutamina abrangem a modulação da expressão de genes relacionados com a síntese e degradação de proteínas, a proliferação celular e a ativação de vias envolvidas com a apoptose celular (SINGLETON, BECKEY, WISCHMEYE, 2005; ROGERO, TIRAPGUI, NEWSHOLME, *et al.*, 2003; GABAI, SHERMAN, 2002). Uma vez estas proteínas ativadas, são capazes de sinalizar contribuindo para o aumento da capacidade de sobrevivência celular quando há exposição à alterações na homeostasia decorrente de exposição à agentes estressores como radiação

ultravioleta (UV), calor, agentes infecciosos e espécies reativas de oxigênio (GABAI, SHERMAN, 2002).

Estudos já revelaram que UCP2 é sobre-expresso na maioria das células cancerígenas, tendo função antiapoptótica e exercendo um controle na produção de ROS; atuando, ainda no efeito Warburg (promove a proliferação celular rápida e crescimento do Tumor) (SAMUDIO, 2008; AYYASAMY *et al.*, 2011; DENG *et al.*, 2012). Considerando-se que USP pode modular ROS, que está envolvida na regulação da sobrevivência celular, estudos supõem que USPs estariam envolvidos na progressão do câncer, o que vem sendo bastante aceitável, pois a expressão de USP2 é sobrerregulado em várias linhas celulares de carcinoma hepatocelular (HCC). A modulação de ROS por UCP2 tem capacidade de alterar as respostas de p53 (gene supressor de tumor) e colaborar para que células cancerosas sobrevivam. Pode-se sugerir, portanto, que UCP2 tenha possibilidade de ser observado como um alvo terapêutico em alguns tipos de câncer, embora no HCC não tenha, ainda, um papel preciso (CARRETERO *et al.*, 1998; VALLE, OLIVER, ROCA, 2010; BAFFY, DERDAK, ROBSON, 2011).

O gene *SGSM3* tem sua atuação regulando pequenas proteínas G (*G protein coupled receptor*, GPCR - são as primeiras estruturas envolvidas na transdução celular), e juntamente com RUTB3 (Anticorpo Policlonal por Western Blot - chamado de imunomarcção de proteínas, detecta proteína específica de uma amostra); pode suprimir a progressão do crescimento celular (LEE IK *et al.*, 2004; YANG, 2007). Com relação a este gene, a literatura tem se preocupado em analisar seus polimorfismos, em especial o rs56228771.

Estudos vem sendo realizados considerando a associação entre a região 3'UTR de *SGSM3* e um polimorfismo de inserção/deleção na evolução de quadros clínicos de hepatopatias à carcinoma hepatocelular.

Em um estudo caso controle em uma população chinesa concluiu-se na análise de regressão logística que se comparando o genótipo ins/del e ins/ins com del/del do polimorfismo rs 56228771, haveria um risco significativamente reduzido de HCC principalmente no subgrupo HBsAg negativo (antígeno que surge logo após acontecer a infecção por VHC, entre 30 e 40 dias, podendo ser detectável por em

média 120 dias, estando presente em infecções agudas e crônicas). Concluiu-se, ainda, que em tecidos não adjacentes de HCC a expressão de SGSM3 seria expressivamente mais elevada (WANG C *et al.*, 2014).

No mesmo estudo, de grande importância foi a análise da atuação de miRNAs, que correspondem a pequenos RNAs que não codificam extensivamente expressão do gene, mas geralmente inibem a tradução de mRNA alvo e os níveis de emparelhamento de bases para o mRNA da 3'UTR (PILLAI 2005; PILLAI, BHATTACHARYYA, 2007). Considerando-se que amostras de tecidos e de linhagens de células de hepatomas tem maior expressão de Mrna de SGSM3; dá-se destaque a uma região dentro do polimorfismo rs56228771 onde encontra-se um sítio de ligação chamado miR-151, de modo que o miR-151-5p liga-se aos transcritos de mRNA reprimindo a expressão de SGSM3. A expressão de miR – 151 é relacionada com o número de cópias de DNA, daí seu potente papel na carcinogênese (HCC). Ressalta-se que miR-151-5p leva a um significativo aumento da migração de células do HCC (LIU AM *et al.*, 2011; DING 2010; Yu *et al.*, 2012).

A regressão logística multivariada com ajuste para ancestralidade africana revelou que o genótipo del/del do gene UCP2 apresenta numa associação com uma significativa diminuição do risco de desenvolver cirrose hepática (P= 0,05). Desta forma, inevitável é a emergência do pensamento convergente com as várias conclusões de estudos relacionados com este gene, os quais o apontam como provável alvo terapêutico, em especial para as hepatopatias como hepatite C, buscando-se a prevenção de uma evolução desfavorável, principalmente tratando-se do genótipo del/del.

Quanto à análise do genótipo del/del do polimorfismo do gene SGSM3 (rs56228771), também obteve-se consonância com conclusões de outros estudos que tiveram este gene como alvo, visto que estudos já demonstraram quanto ao antígeno HBsAg que o genótipo ins/del e ins/ins no polimorfismo rs56228771, proporcionaria um risco significativamente reduzido de HCC comparando-se com o genótipo del/del. E em nosso estudo, pôde-se identificar que o genótipo del/del no mesmo polimorfismo

proporciona maior risco em desenvolver cirrose hepática e considerando-se a cirrose como causa de CHC, a possibilidade de desenvolver este câncer seria real.

Considerando-se os sinais e sintomas da doença hepática crônica, importante destacar a encefalopatia hepática presente em 82,35% dos pacientes com cirrose. A encefalopatia foi identificada como a mais comum síndrome clínica em portadores de doença hepática crônica, chegando a atingir de 50% a 70% dos cirróticos (FERRAZ; FIGUEIREDO, 2004).

5. CONCLUSÃO

O sexo, a idade, o tabagismo, o etilismo, os polimorfismos nos genes *TYMS* e *NFKB1*, comorbidades como a diabetes e sintomatologia não apresentaram interferência na evolução clínica desfavorável de pacientes com hepatite C crônica haja ou não cirrose. A proporção de ancestralidade africana foi mais frequente no grupo sem cirrose, com diferença estatisticamente diferente entre os grupos. A cada aumento de 10% na ancestralidade africana conferiu uma redução de 0, 571 de chances de desenvolver cirrose hepática, conferindo, portanto, um efeito de proteção na progressão da cirrose hepática entre os indivíduos com hepatite C. O polimorfismo do gene *UCP2* o genótipo del/del foi associado com uma significativa diminuição do risco de desenvolver cirrose hepática. O genótipo del/del do polimorfismo do gene *SGSM3* foi associado a um risco significativo de desenvolver cirrose hepática. Com todas as análises apresentadas nesta obra, a medicina personalizada encontra-se em destaque como elemento favorecido, sobretudo, por obter informações que enriquecem as bases metodológicas e científicas necessárias para a sua evolução.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLAH, A. *et al.*,. Inhibitor kappa B-alpha (IkappaB-alpha) promoter polymorphisms in UK and Dutch sarcoidosis. **Genes Immun**, v.4, p.450-454, 2003.

ADINOLFI, L. E. *et al.*,. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific VHC genotype and visceral obesity. **Hepatology**, v.33, p.1358-1364, 2001.

AFDAHL, N.H. The natural history of hepatitis C. **Seminars in live Disease**, v.24. n.2, p.3-8, 2004.

AGGARWA L, B.B. Nuclear factor-kappaB: the enemy within. **Cancer Cell**, v.6, p.203-208, 2004.

ALMEIDA, A. M. Revisão sistemática da eficácia do interferon alfa (convencional, peguilado) e lamivudina para o tratamento da hepatite crônica B. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.25, n.8, 2009.

ALTAMIRANO, B. & BATALLER, R. Cigarette smoking and chronic liver diseases. **BMJ Publishing Group Limited**, v.59, n. 9, 2010. Disponível em <<http://gut.bmj.com/content/59/9.toc>>. Acesso em: 9 set. 2015.

ALVES, D. M. *et al.*,. Surto de hepatite C em uma unidade de hemodiálise no Estado do Pará, Brasil - resultados preliminares. In: **Congresso Brasileiro de Nefrologia**, n.16, Anais. Rio de Janeiro, 1992.

ARISAWA, T. *et al.*,. Functional promoter polymorphisms of NFKB1 influence susceptibility to the diffuse type of gastric cancer. **Oncology Reports**, v.30, n.6, p.3013-3019, 2013.

ARMSTRONG, G. L. *et al.*,. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. **Ann Intern Med.**, v.144, n.10, p.705-14, 2006.

ATTWA, M.H; SHAHIRA, A.E.; Guide for diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. **Mundo J Hepatol.**, v.7, n.12, p.1632-1651, 2015.

AYYASAMY, V. *et al.*, Cellular model of Warburg affect identifies tumor promoting function of UCP2 in breast cancer and its suppression by genipin. **PLoS ONE**, v.6, n.9, p.247-92, 2011.

BAFFY, G.; DERDAK, Z.; ROBSON, S.C. Mitochondrial recoupling: a novel therapeutic strategy for cancer? **Br. J. Cancer**, v.105, p.469–474, 2011.

BALUZ, K.; CARMO, M.G.T; ROSAS, G. O papel do ácido fólico na prevenção e na terapêutica oncológica: revisão. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v.48, n.4, p.597-607, 2002.

BASAK, S. *et al.* A fourth IkappaB protein within the NF-kappaB signaling module. **Cell**, v.28, p.369–381, 2007.

BECKER, U. *et al.* Prediction of risk of liver disease by alcohol intake, sex, and age: a prospective population study. **Hepatology**, v.23, n.5, p.1025–1029, 1996.

BEDOSSA, P.; POYNARD, T. An Algorithm for the Grading of Activity in Chronic Hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. **Hepatology**, v.24, n.2, p.289-293, 1996.

BENHAMOUCHE, S. *et al.* Nf2/Merlin controls progenitor homeostasis and tumorigenesis in the liver. **Genes Dev.**, v.24, p.718-730, 2010.

BENSABATH, G.; LEÃO, R. N. Q. Epidemiologia na Amazônia Brasileira. In: FOCCACIA, R. **Tratado de Hepatites Virais**. São Paulo Ateneu, p.11-26, 2003.

BIANCO, B. *et al.*, The nuclear factor-kB functional promoter polymorphism is associated with endometriosis and infertility. **Hum Immunol.** v.73, n.11, p.1190-1193, 2012.

BITTENCOURT, P. L. **Modulo IV. Cirrose Descompensada**. Manual de Cuidados Intensivos em Gastroenterologia e Hepatologia. Abordagem inicial do cirrótico. Nycomed, 2005, p.103-112.

BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO - AIDS E DST. Brasília, DF: Ministério da Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais, ano VIII, n. 1, 2010/2011.

BRANDÃO, A. B. M. *et al.* Diagnóstico da hepatite C na prática médica: revisão da literatura. **Rev Panam Salud Publica**, v.9, n.3, 2001.

BRASIL, L. *et al.* Prevalência dos genótipos do vírus da hepatite C (VHC) entre diferentes populações de risco no Estado do Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.31, n.1, 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Portaria nº 34, de 28 de setembro de 2007. Dispõe sobre Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite Viral C, 2007.

BURRA, P. Influence of age and gender before and after liver transplantation. **Liver Transpl.**, v.19, n.2, p.122-134, 2013.

BURT, A. D; PORTMAN, B. C; FERREL, L. D. Macsweens Pathology of the Live. 5 ed. Edinburgh, Churchill Livingstone, 2007.

CAI, H. *et al.* A functional snsertions/ deletion polymorphism (- 94 ins / del ATTG) in the promoter region of the NFKB1 gene is related to the risk of renal cell carcinoma. **Urol. int.**, v.91, n.2, p.206-212, 2013.

CALLEGARI-JACQUES, S. M. *et al.* Historical Genetics: Spatiotemporal Analysis of the Formation of the Brazilian Population. **Am J Hum boil.**, v.15, n.6, p.824-834, 2003.

CARRETERO M. V. *et al.* Transformed but not normal hepatocytes express UCP2. **FEBS Lett.**, v.439, p.55–58, 1998.

CARRILLO, F. J. *et al.* Brazilian society of hepatology recommendations for the diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. **Arq. Gastroenterol**, v.52, n.1, p.2-14, 2015.

CARVALHO, J. R. *et al.* Método para estimação de prevalência de hepatites B e C crônicas e cirrose hepática - Brasil, 2008*. **Epidemiol. Serv. Saúde**, v.23, n.4, 2014.

CASTERA, L.; FORNS, X.; ALBERTI, A. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. **J. Hepatol.**, v.48, p.835–847, 2008.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Sexual transmission of hepatitis C virus among HIV-infected men who have sex with men - New York City, 2005-2010. **MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report 22**, v.60, n.28, p.945-950, 2011.

CHEN, S. L.; MORGAN, T. R. A história natural do vírus da hepatite C. (VHC). **Int. J. Med. Sci.**, p.47-52, 2006.

CHEN, T. Y. *et al.* Meta-analysis: increased mortality associated with hepatitis C in HIV-infected persons is unrelated to HIV disease progression. **Clin. Infect. Dis.**, v.49, p.1605–1615, 2009.

CHENG, T. *et al.* Pyruvate carboxylase is required for glutamine-independent growth of tumor cells. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v.108, n.21, p.8674–8679, 2011.

CHENG, C. W. *et al.* Effects of NFKB1 and NFKBIA gene polymorphisms on hepatocellular carcinoma susceptibility and clinicopathological features. **PLoS One**, v.8, n.2, 2013.

CHEVILLARD, C. *et al.* IFN- γ polymorphisms (IFN- γ + 2109 and IFN- γ + 3810) are associated with severe hepatic fibrosis in human hepatic Schistosomiasis (*Schistosoma mansoni*). **The Journal of Immunology**, v.171, n.10, p.5596-5601, 2003.

CHOO, Q. L. *et al.* Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A non-B viral hepatitis genome. **Science**, v.244, p359-362, 1989.

CIPOLLIN, M.; LANDI, S.; GEMIGNAN, F. Micro RNA binding site polymorphisms as biomarker in cancer management and research. **Journal pharmaco genomics and personalized medicine**, v.7, p.73–191, 2014.

CONJEEVARAM, H. S. *et al.* Peginterferon and ribavirin treatment in African American and Caucasian American patients with hepatitis C genotype 1. **Gastroenterology**, v.131, n.2, p.470-477, 2006.

CONTE, V. P. Hepatite crônica por vírus c. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v.40, n.4, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0037-86822007000400016&script=sci_arttext.disponível>. Acessado em: 10 de maio de 2015.

CÔRTEZ, H. G.; SOUZA, M. L. O indicador Anos Potenciais de Vida Perdidos e a ordenação das causas de morte em Santa Catarina. **Informe Epidemiológico do SUS**, v.8, n.1, p.17-25, 1999.

CURI, R. *et al.* Molecular mechanisms of glutamine action. **J. Cell Physiol.**, v.204, p.392-401, 2005.

DAVIS, G. L.; ALTER, M. J.; EL-SERAG, H. *et al.* Aging of hepatitis C virus (VHC)-infected persons in the United States: a multiple cohort model of VHC prevalence and disease progression. **Gastroenterology**, v.138, n.2, p.513-521, 2010.

DENG S, *et al.* UCP2 inhibits ROS-mediated apoptosis in A549 under hypoxic conditions. **PLoS ONE**, v.7, n.1, 2012.

DESMET, V. J. AND ROSKAMS, T. Cirrhosis reversal: a dual between dogma and myth. **Journal of hepatology**, v.40, n.5, p.860-867, 2004.

DING, J. *et al.* Gain of miR-151 on chromosome 8q24.3 facilitates tumour cell migration and spreading through downregulating RhoGDI. **Nat. Cell Biol.**, v.12, n.4, p.390-399, 2010.

DONALDSON, P. T. Genetics of liver disease: immunogenetics and disease pathogenesis. **Gut.**, v.53, n.4, p.599-608, 2004.

DONATO, F.; BOFFETTA, P.; PUOTI, M. A meta-analysis of epidemiological studies on the combined effect of hepatitis B and C virus infections in causing hepatocellular carcinoma. **Int. J. Cancer.**, v.75, n.3, p.347-354, 1998.

DUFOUR, M. C. What is Moderate Drinking? Defining "Drinks" and Drinking Levels. **Alcohol Research & Health**, v.23, n.1, p.5-14, 1999.

EL-SERAG, H. B. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. **Gastroenterology**, v.142, n.6, p.1264-73, 2012.

EYSTER, M. E. *et al.* Increasing hepatitis C virus RNA levels in hemophiliacs: relationship to human immunodeficiency virus infection and liver disease. **Multicenter Hemophilia Cohort Study Blood**, v.84, n.4, p.1020-1023, 1994.

FAN, Y. *et al.* Insertion/deletion promoter polymorphism increases the risk of advanced ovarian cancer in a Chinese population. **DNA Cell Biol.**, v.30, n.4, p.241-245, 2011.

FARFEL, Z.; BOURNE, H. R.; IIRI, T. The expanding spectrum of G protein diseases. **N. Engl. J. Med.**, v.340, p.1012-1020, 1999.

FARIA, R. *et al.* Cirrose hepática revisitada: a propósito de um caso clínico. **J. Port. Gastreterol.**, v.19, n.4, p.209-214, 2012.

FERLAY, J. *et al.* Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **International Journal Of Cancer**, v.136, n.5, p.359-386, 2014.

FERRAZ, L. R.; FIGUEIREDO, L. F. P. Diagnóstico de encefalopatia hepática. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v.50, n.2, 2004.

FLEURY, C. *et al.* Uncoupling protein-2: a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia. **Nature Genet.**, v.15, p.269-272, 1997.

FONSECA, J. C.; BRASIL, L. M. Infecção pelo vírus da hepatite C na região Amazônica brasileira. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.37, n.2, p.1-8, 2004.

FONTES, P. R. O.; NECTOUX, M.; EILERS, R. J. *et al.* Cholelithiasis and hepatic cirrhosis. **Rev. Col. Bras.Cir. Rio de Janeiro**, v.25, n.2, p.129-133, 1998.

FRIEDMAN, S. L. Mechanisms of disease: mechanisms of hepatic fibrosis and therapeutic implications. **Nature Clinical practice Gastroenterology & Hepatology**, v.1, n.2, p.98-105, 2004.

FRIEDMAN, S. L.; ARTHUR, M. J. P. Reversing hepatic fibrosis. **Science & Medicine**, v.8, n.4, p.194-205, 2002.

GABAI, V. L.; SHERMAN, M. Y. Interplay between molecular chaperones and signaling pathways in survival of heat shock. **J. Appl. Physiol.**, v.92, n.4, p.1743-1748, 2002.

GERBERDING, J. L. Incidence and prevalence of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, hepatitis C virus, and cytomegalovirus among health care personnel at risk for blood exposure: final report from a longitudinal study. **J. Infect. Dis.**, v.170, n.6, p.1410-1417, 1994.

GIANNINI, E.; RISSO, D.; TESTA, R. Transportability and reproducibility of the AST/ALT ratio in chronic hepatitis C patients. **American Journal of Gastroenterology**, v.96, n.3, p.918-919, 2001.

GILMORE, T. D. The Re1/NF-kappa B/I kappa B signal transduction pathway and cancer. **Cancer Treat Res**, v.115, p.241-265, 2003.

GOMES, M. A. *et al.* Carcinoma hepatocelular: epidemiologia, biologia, diagnóstico e terapias. **Rev. Assoc. Med. Bras. São Paulo**, v.59, n.5, p.514-524, 2013.

GOMES, S. A.; NIEL, C. Hepatites virais. Introdução à Virologia Humana, Guanabara Koogan, p.331-356, 2008.

GONÇALVES, P. L.; GONÇALVES, C. S.; PEREIRA, F. E. L. Mortality from liver cirrhosis in Espírito Santo State, Brazil. **Cad. Saúde Pública.**; v.30, n.6, p.1335-1340, 2014.

GONZAGA, R. M. *et al.* Distribution of Hepatitis C virus (VHC) genotypes in seropositive patients in the State of Alagoas, Brazil. **Braz. J. Microbiol.**, v.39, p.644-647, 2008.

GRIVENNIKOV, S. I; GRETEN, F. R; KARIN, M. Immunity, inflammation, and cancer. **Cell**, v.140, n.6, p.883-899, 2010.

GUAN, X. *et al.*, .Genetic variant rs16430 6bp>0bp at the microRNA-binding site in TYMS and risk of sporadic breast cancer risk in nonhispanic white women aged ≤55 years. **Mol. Carcinog.**, v.54, n.4, p.281-290, 2013.

HE, Y. *et al.* Gene promoter polymorphisms are associated with hepatocarcinogenesis in patients infected with hepatitis B virus genotype C. **Carcinogenesis**, v.30, n.11, p.1916-22, 2009.

HENRI, S. *et al.* Cytokine regulation of periportal fibrosis in humans infected with *Schistosoma mansoni*: IFN- γ is associated with protection against fibrosis and TNF α with aggravation of disease. **The Journal of Immunology**, v.169, n.2, p.929-936, 2002.

HERNANDO, V. *et al.* All-cause and liver-related mortality in HIV positive subjects compared to the general population: differences by VHC co-infection. **J. Hepatol.**, v.57, p.743-751, 2012.

HILL, A. V. S. Evolution, revolution and heresy in the genetics of infectious disease susceptibility. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v.367, n.1590, p.840-849, 2012.

HOFFMANN, A.; NATOLI, G.; GHOSH, G. Transcriptional regulation via the NF-kappaB signaling module. **Oncogene**; v.25, p.6706-6716, 2006.

HORI, T.; AYUSAWA, D.; GLOVER, T. W.; SENO, T. Expression of fragile site on the human X chromosome in somatic cell hybrids between human fragile X cells and thymidylate synthase-negative mouse mutant cells. **Jpn. J. Cancer Res.**, v.76, p.977-983, 1985.

HUANG, D. *et al.* Functional polymorphisms in NF κ B1/I κ B α predict risks of chronic obstructive pulmonary disease and lung cancer in Chinese. **Hum. Genet.**, v.132, n.4, p.451-60, 2013.

JEPSEN, P. *et al.* Risk for hepatocellular carcinoma in patients with alcoholic cirrhosis: a Danish nationwide cohort study. **Ann. Intern. Med.**, v.156, n.12, p.841-847, 2012.

KANEDA, M. Male infertility in the hereditary polydactyly (PD) rat. *Laboratory Animal Science.*, v.40, n.4, p.379-383, 1990.

KARIN, M. NF-kappaB as a critical link between inflammation and cancer. **Cold Spring Harb Perspect Biol.**, v.1, n.5, 2009.

KAWAKAMI, K. *et al.* Polymorphic tandem repeats in the thymidylate synthase gene is associated with its protein expression in human gastrointestinal cancers. **Anticancer Res.**, v.19, p.3249-3252, 1999.

KELEN, G. D.; GREEN, G. B.; PURCELL, R. H. *et al.* Hepatitis B and hepatitis C in emergency department patients. **N. Engl. J. Med.**, v.326, n.21, p.1399-1404, 1992.

KONSTANTINOOU, D. & DEUTSCH, M. The spectrum of HBV/VHC coinfection: epidemiology, clinical characteristics, viral interactions and management. **Ann Gastroenterol**, v. 28, n.2, p.221–228, 2015.

KOSTERS, A.; KARPEN, S. J. The role of inflammation in cholestasis: clinical and basic aspects. **Semin. Liver Dis.**, v.30, n.2, p.186-194, 2010.

LAMIREAU, T. *et al.* Mechanisms of hepatic fibrogenesis. **Archives of Pediatrics**, v.9. n.4, p.392-405, 2002.

LAVANCHY D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus. **Clin Microbiol Infect.** v.17, n.2., p.07-15, 2011.

LEE, I. K. *et al.* A protein interacting with a tumor suppressor, merlin, through the run domain. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v.325, p.774-783, 2004.

LEE, L. P. *et al.* Comparison of liver histopathology between chronic hepatitis C patients and chronic hepatitis B and C coinfecting patients. **J Gastroenterol Hepatol.**, v.22, p.515-517, 2007.

LEVINE, R. A.; SANDERSON, S. O.; Ploutz-Snyder, R. *et al.* Assessment of fibrosis progression in untreated Irish women with chronic hepatitis C contracted from immunoglobulin anti-D. **Clin Gastroenterol Hepatol.**, v.4, n.10, p.1271-1277, 2006.

LIDA, V. H. *et al.* Cirrose hepática: aspectos morfológicos relacionados às suas possíveis complicações. Um estudo centrado em necropsias. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v.41, n.1, p.29-36, 2005.

LIU, A. M. *et al.* Global regulation on microRNA in hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. **OMICS**, v.15, p.187-191, 2011.

LIU, P. *et al.* Activation of NF-kappa B, AP-1 and STAT transcription factors is a frequent and early event in human hepatocellular carcinomas. **J Hepatol.**, v.37, p.63-71, 2002.

LÓPEZ-MEJÍAS, R. *et al.* Ins/del polymorphism (rs28362491) is associated with cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis. **Atherosclerosis**, v.224, n.2, p.426-429, 2012.

MAASOUMY, B.; WEDEMEYER, H. Natural history of acute and chronic hepatitis C. **Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.**, v.26, n.4, p.401-412, 2012.

MANDOLA, M. V. *et al.* A 6 bp polymorphism in the thymidylate synthase gene causes message instability and is associated with decreased intratumoral TS mRNA levels. **Pharmacogenetics**, v.14, p.319-327, 2004.

MANNS, M. P.; CZAJA, A. J.; GORHAM, J. D. *et al.* Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. **Hepatology**, v.51, n.6, p.2193-2213, 2010.

MARCELLIN, P.; ASSELAH, T.; BOYER, N. Fibrosis and disease progression in hepatitis C. **Hepatology**, v.36, n.5, supl.1, p.47-56, 2002.

MASSARD, J. *et al.* Natural history and predictors of disease severity in chronic hepatitis C. **Journal of Hepatology**, v.44, n.1, p.19-24, 2006.

MCHUTCHISON, J. G.; BACON, B. R. Chronic hepatitis C: an age wave of disease burden. **The American Journal Managed Care**, v.11, n.10, p.286-295, 2005.

MCHUTCHISON, J. G.; LAWITZ, E. J.; SHIFFMAN, M. L. *et al.* Peginterferon alfa-2b or alfa-2a with ribavirin for treatment of hepatitis C infection. **N. Engl. J. Med.**, v.361, n.6, p.580-593, 2009.

MENCIN, A.; KIUWE, J.; SCHWABE, R. F. "Toll-like receptors as targets in chronic liver diseases" **Gut.**, v.58, n.5, p.704-720, 2009.

MIKOL, Y. B. *et al.* Hepatocarcinogenesis in rats fed methyl-deficient, amino acid-defined diets. **Carcinogenesis**, v.4, p.1619-1629, 1983.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, Brasil. Boletim Epidemiológico – Hepatites Virais. Ano V - nº 01. Ministério da Saúde - Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das DST, Aids e Hepatites Virais (DDAHV) – Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, Brasil. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções. Ministério da Saúde - Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das DST, Aids e Hepatites Virais (DDAHV) – Brasília: Ministério da Saúde, 1ª edição, 2015.

MISSIHA, S. B.; OSTROWSKI, M.; HEATHCOTE, E. J. Disease progression in chronic hepatitis C: modifiable and nonmodifiable factors. **Gastroenterology**, v.134, n.6, p.1699-1714, 2008.

MITTAL, S.; EL-SERAG, H. B. Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v.47, p.2-6, 2013.

MOHD SUZAIRI, M. S. *et al.*, The functional -94 insertion/deletion ATTG polymorphism in the promoter region of NFkB1 gene increases the risk of sporadic colorectal cancer. **Cancer Epidemiol.**, v.37, n.5, p.634-638, 2013.

MOIA, L. J. M. P *et al.* The liver diseases program of the Hospital Santa Casa de Misericórdia do Pará - infrastructure and clinical epidemiology in 10 years of attendance. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.37, n.2, 2004.

MOYLAN, C. A. *et al.* Disparities in liver transplantation before and after introduction of the MELD score. **JAMA**, v.300, n.20, p.2371-2378, 2008.

NAKAE, D. *et al.* High incidence of hepatocellular carcinomas induced by a choline deficient L-amino acid defined diet in rats. **Cancer Res.**, v.52, p.5042-5045, 1992.

NEWSHOLME, P. *et al.* Glutamine and glutamate - their central role in cell metabolism and function. **Cell Biochem Funct.**, v.21, p.1-9, 2003.

OKUDA, K. Hepatocellular carcinoma. **J. Hepatol.**, v.32, p.225-237, 2000.

PACIFICO, F.; LEONARDI, A. NF-kappaB in solid tumors. **Biochem Pharmacol.**, v.72, p.1142-1152, 2006.

PAHL, H. L. Activators and target genes of Rel/NF-kappaB transcription factors. **Oncogene**, v.18, p.6853-6866, 1999.

PARRA, F. C *et al.* Color and genomic ancestry in Brazilians. **Genet.**, v.100, p.177-182, 2003.

PASCUAL, S.; HERRERA, I.; IRURZUN, J. New advances in hepatocellular carcinoma. **World J Hepatol.**, v.8, n. 9, p.421-438, 2016.

PAZGAN-SIMON, M. *et al.* Diagnostic Challenges in Primary Hepatocellular Carcinoma: Case Reports and Review of the Literature. Relato de caso. **Reports In Oncological Medicine**, p.1-5, 2015.

PECQUEUR, C. Functional organization of the human uncoupling protein-2 gene and juxtaposition to the uncoupling protein-3 gene. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v.255, p.40-46, 1999.

PELETEIRO, B.; *et al.* Systematic review of the prevalence of gastric intestinal metaplasia and its area-level association with smoking. **Gac. Sanit.**, v.22, n.3, p.236-47, 2008.

PILLAI, R. S. MicroRNA function: multiple mechanisms for a tiny RNA? **RNA**, v.11, n.12, p.1753-1761, 2005.

PILLAI, R. S.; BHATTACHARYYA, S. N.; FILIPOWICZ, W. Repression of protein synthesis by miRNAs: how many mechanisms? **Trends Cell Biol.**, v.17, p.118-126, 2007.

POGRIBNY, I. P.; *et al.* Breaks in genomic DNA and Within the P53 gene are associated with hypomethylation in livers of folate/ methyl-deficient rats. **Cancer Res.**, v.55, p.1994-901, 1995.

POWELL, E. E. *et al.* Host genetic factors influence disease progression in chronic hepatitis C. **Hepatology**, v.31, p.828-83, 2000.

POYNARD, T.; BEDOSSA, P.; OPOLON, P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. **Lancet**, v.349, p.825-832, 1997.

PRECIADO, M. V. *et al.* Hepatitis C virus molecular evolution: Transmission, disease progression and antiviral therapy. **World Journal Of Gastroenterology**, v.20, n.43, p.15992-16013, 2014.

PRITCHARD, J. K.; ROSENBERG, N. A. Use of unlinked genetic markers to detect population stratification studies. **Am. J. Hum. Genet.**, v.65, p.220-8, 1999.

PYRSOPOULOS, N.; JEFFERS, L. Chronic hepatitis C in African Americans. **Clinics in liver disease**, v.9, n.3, p.427-438, 2005.

PYRSOPOULOS, N.; JEFFERS, L. Hepatitis C in African Americans. **Journal of clinical gastroenterology**, v.41, n.2, p.185-193, 2007.

QIAO, L. *et al.* Constitutive activation of NF-kappaB in human hepatocellular carcinoma: evidence of a cytoprotective role. **Hum. Gene Ther.**, v.17, p.280-290, 2006.

ROGERO, M. M.; TIRAPEGUI, J. O. Considerações nutricionais e bioquímicas da suplementação de glutamina em atletas: controvérsias e aspectos atuais. **J. Metab. Nutr.**, v.7, p.106-117, 2003.

ROGERS, R. G. *et al.* Social, behavioral, and biological factors, and sex differences in mortality. **Demography**, v.47, n.3, p.555-578, 2010.

SAGNELLI, E. *et al.* HBV superinfection in VHC chronic carriers: a disease that is frequently severe but associated with the eradication of VHC, **Hepatology**, v.49, p.1090-1097, 2009.

SAITO, T. *et al.*, Genetic variations in humans associated with differences in the course of hepatitis C. **Biochem Biophys Res. Commun.**, v.317, n.2, p.335-341, 2004.

SAMUDIO, I. *et al.*, The Warburg effect in leukemia-stroma cocultures is mediated by mitochondrial uncoupling associated with uncoupling protein 2 activation. **Cancer Res.**, v.68, n.13, p.5198-5205, 2008.

SANTOS, N. P. *et al.* Assessing individual interethnic admixture and population substructure using a 48 insertion-deletion ancestry informative markers panel. **Human mutation**, v.31, p.84-90, 2010.

SBH. Relatório do Grupo de Estudo da Sociedade Brasileira de Hepatologia. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite C no Brasil. **GED**, v.18, p.53-58, 1999.

SCHINONI, M. I.; OLIVEIRA, A. Resistência à insulina: seu impacto na evolução da hepatite crônica por vírus C. Instituto de Ciências da Saúde e Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia; **Gaz. méd. Bahia**, v.79, supl.2, p.15-16, 2009.

SEEFF, L. B.; MILLER, R. N.; RABKIN, C. S. *et al.* 45-year follow-up of hepatitis C virus infection in healthy young adults. **Ann. Intern. Med.**, v.132, n.2, p.105-111, 2000.

SHEN, R. *et al.* Genetic polymorphisms in the microRNA binding-sites of the thymidylate synthase gene predict risk and survival in gastric cancer. **Mol. Carcinog.**, v.54, n.9, p.880-888, 2014.

SHI, J. *et al.* A meta-analysis of case-control studies on the combined effect of hepatitis B and C virus infections in causing hepatocellular carcinoma in China. **Br. J. Cancer.**, v.92, p.607-612, 2005.

SIMARD, E. P. *et al.* Cancers with increasing incidence trends in the United States: 1999 through 2008. **CA Cancer J. Clin.**, v.62, n.2, p.118-128, 2012.

SINGLETON, K. D.; BECKEY, V. E.; WISCHMEYER, P. E. Glutamine prevents activation of NF-kB and stress kinase pathways, attenuates inflammatory cytokine release, and prevents acute respiratory distress syndrome (ARDS) following sepsis. **Schock**, v.24, p.583-589, 2005.

SMYK, D. S. 1. Smoking as a risk factor for autoimmune liver disease: what we can learn from primary biliary cirrhosis. **Ann. Hepatol.**, v.11, n.1, p.7-14, 2012.

SOARES, C. C.; SANTOS, N. S. O. *Viroses Entéricas. Introdução à Virologia Humana*, Guanabara Koogan, p.147-176, 2008.

SOARES, M. C. P. Prevalência de anticorpos para o vírus da hepatite C em doadores de sangue no Estado do Pará. In: **Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 29. Anais. Fortaleza, p.156, 1993.

STEGGER, J. G. *et al.* Interaction between obesity and the NFKB1-94ins/del ATTG promoter polymorphism in relation to incident acute coronary syndrome: a follow up study in three independent cohorts. **PLoS One**, v.8, n.5, 2013.

STRAUSS, E. Hepatite C. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba. v.34, n.1, 2001.

STUDACH, L. L. *et al.*, Subset of Suz12/PRC2 target genes is activated during hepatitis B virus replication and liver carcinogenesis associated with HBV X protein. **Hepatology**, v.56, n.4, p.1240-1251, 2012.

SUK, K. T. *et al.*, A prospective nationwide study of drug-induced liver injury in Korea. **Am. J. Gastroenterol.**, v.107, n.9, p.1380-1387, 2012.

TAI, D., *et al.* Activation of nuclear factor kappaB in hepatitis C virus infection: implications for pathogenesis and hepatocarcinogenesis. **Hepatology**, v.31, p.656-664, 2000.

TEDALDI E. M. *et al.* Influence of coinfection with hepatitis C virus on morbidity and mortality due to human immunodeficiency virus infection in the era of highly active antiretroviral therapy. **Clin Infect Dis**, v. 36, p.363–7, 2003.

TEJEDA-MALDONADO, J. Diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma: An update. **World J Hepatol.**, v.7, n.3, p.362-376, 2015.

TENGAN, F. M. *et al.* Seroprevalence of hepatitis C virus among people living with HIV/AIDS in Latin America and the Caribbean: a systematic review. **BMC Infectious Diseases**, v.16, n.663, 2016.

THIEL, D. H. V; RAMADORI, G. Non-Viral Causes of Hepatocellular Carcinoma. **J. Gastrointest. Cancer.**, v.42, n.4, p.191-194, 2011.

TORRES, K. L. *et al.* Hepatitis C vírus in blood donors, Brazil. **Emerg. Infect. Dis.**, v.15, p.676-678, 2009.

TORRES, M.; POYNARD, T. Risk factors for liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis **C. Ann. Hepatol.**, v.2, n.1, p.5-11, 2003.

TREPO, E. *et al.* Role of a cirrhosis risk score for the early prediction of fibrosis progression in hepatitis C patients with minimal liver disease. **J. Hepatol.**, v.55, p.38-44, 2011.

ULRICH, C. M. *et al.* Searching expressed sequence tag databases: discovery and confirmation of a common polymorphism in the thymidylate synthase gene. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.**, v.9, p.1381-1385, 2000.

VALKOVA, M. Hepatic Fibrogenesis. **Bratislavské Lekárske Listy.** v.103, n.2, p.76-85, 2002.

VALLE, A.; OLIVER, J.; ROCA, P. Role of uncoupling proteins in cancer. **Cancers**, v.2, p.567-591, 2010.

VILLA, E. *et al.* Reproductive status is associated with the severity of fibrosis in women with hepatitis C. **PLoS ONE**, v.7, n.9, 2012.

WALDER, K., *et al.* Association between uncoupling protein polymorphisms (UCP2-UCP3) and energy metabolism/obesity in Pima Indians. **Hum. Molec. Genet.**, v.7, p.1431-1435, 1998.

WANG, C. Association between an insertion/deletion polymorphism within 3'UTR of SGSM3 and risk of hepatocellular carcinoma. **Tumour Biol.**, v.35, n.1, p.295-301, 2014.

WANG, S. *et al.* IkappaBalpha polymorphism at promoter region (rs2233408) influences the susceptibility of gastric cancer in Chinese. **BMC Gastroenterol**, v.10, 2010.

WASLEY, A.; ALTER, M. J. Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends. **Semin. Liver Dis.**, v.20, n.1, p.1-16, 2000.

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

WHITACRE, C. C. Sex differences in autoimmune disease. **Nat. Immunol.**, v.2, n.9, p.777-780, 2001.

World Health Organization (WHO). Guidelines for the screening care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. **WHO Library Cataloguing-in-Publication Data**. Updated version, Abril, 2016.

World Health Organization (WHO). Hepatitis. Health in 2015: From MDGs to SDGs. Infectious Diseases. Disponível em: <http://www.who.int/gho/publications/mdgs-sdgs/MDGs-SDGs2015_chapter5_snapshot_hepatitis.pdf?ua=1>. Acessado em: março de 2015.

YANG, H. *et al.* Identification of three novel proteins (SGSM1, 2, 3) which modulate small G protein (RAP and RAB)-mediated signaling pathway. **Genomics**, v.90, p.249-260, 2007.

YOKOO, H. *et al.* Clinicopathological significance of nuclear factor-kappaB activation in hepatocellular carcinoma. **Hepatol. Res.**, v.41, p.240-249, 2011.

YOU, M. *et al.* Recent advances in the imaging of hepatocellular carcinoma. **Clinical And Molecular Hepatology**, v.21, n.1, p.95-103, 2015.

YU, Q. A polymorphism within ErbB4 is associated with risk for hepatocellular carcinoma in Chinese population. **World J. Gastroenterol.**, v.18, n.4, p.383-387, 2012.

YUAN, J. M. *Et al.* Genetic polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase and thymidylate synthase genes and risk of hepatocellular carcinoma. **Hepatology**, v.46, n.3, p.749-758, 2007.

ZHANG, L. J. *et al.* Effects of cytokines on carbon tetrachloride-induced hepatic fibrogenesis in rats. **World Journal of Gastroenterology**, v.10, n.1. 2004.