



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Natália Bronzatto Medolago

**ANÁLISE DE ASSOCIAÇÕES DE
POLIMORFISMOS HLA, HPA, INDICADORES
DE AUTOIMUNIDADE E MANIFESTAÇÕES
REUMATOLÓGICAS NA HEPATITE C**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientador: Prof. Associado Giovanni Faria Silva
Coorientadora: Profa. Assit. Dra. Adriana Camargo Ferrasi

**Botucatu
2020**

Natália Bronzatto Medolago

**ANÁLISE DE ASSOCIAÇÕES DE
POLIMORFISMOS HLA, HPA, INDICADORES
DE AUTOIMUNIDADE E MANIFESTAÇÕES
REUMATOLÓGICAS NA HEPATITE C**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientador: Prof. Associado Giovanni Faria Silva
Coorientadora: Profa. Assit. Dra. Adriana Camargo Ferrasi

Botucatu
2020

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Medolago, Natália.

Análise de associações de polimorfismos HLA, HPA, indicadores de autoimunidade e manifestações reumatológicas na hepatite C / Natália Medolago. - Botucatu, 2020

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Giovanni Faria Silva

Coorientador: Adriana Camargo Ferrasi

Capes: 40101002

1. Hepatite C. 2. Antígenos HLA. 3. Autoimunidade. 4. Fisiopatologia. 5. Polimorfismo (Genética).

Palavras-chave: HLA; HPA; Hepatite C crônica; Manifestações reumatológicas.

“A felicidade só é real quando é compartilhada”

Alexander Supertramp

*A Deus,
por sempre me dar força e coragem.*

*Aos meus pais,
que recordando linhas escritas de outrora, não bastaria dizer que não tenho
palavras para agradecer pela vida e como me ensinaram a vivê-la com
dignidade, pela doação e pelas renúncias para que eu pudesse realizar meus
sonhos e pela educação a mim proporcionada. Minha eterna gratidão.*

A conclusão desta tese se concretizou devido ao apoio e incentivo de muitos, que neste momento gostaria de agradecer:

Aos pacientes que, voluntariamente, contribuíram para que os resultados desta pesquisa possam ajudar outras pessoas com as mesmas dificuldades.

Ao meu orientador Prof. Dr. Giovanni Faria Silva, pela orientação, parceria e confiança a mim depositada para realização e condução deste estudo. Eternamente grata pela contribuição ao meu crescimento profissional.

À minha co-orientadora Prof. Dra. Adriana Camargo Ferrasi, pelas orientações, disponibilidade, incentivo, parceria, companheirismo, amizade e pelas tantas xícaras de café. Toda sua dedicação foi fundamental para a concretização deste momento.

Ao grande colaborador e incentivador desta pesquisa Prof. Dr. Oswaldo Melo da Rocha, pelos ensinamentos, confiança e descobertas.

Ao Laboratório de Biologia Molecular do Hemocentro – Divisão da FMB e ao Laboratório de Análises Clínicas do HC/FMB/UNESP.

Aos meus queridos colegas da Coordenação-Geral de Ações Estratégicas em Pesquisa Clínicas (CGPCLIN/DECIT/SCTITE/MS), em especial à Coordenadora Patrícia de Souza Boaventura, seu substituto Felipe Fagundes Soares e Vanessa Therumi Assao pelo incentivo e ternura com que me apoiaram e compreenderam minhas necessidades para conclusão desta etapa.

À Unidade de Pesquisa Clínica - UPECLIN/FMB/UNESP em especial, a Gerente Administrativa Ana Paola Piloto de Oliveira pela compreensão e parceria.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), que financiou este projeto por meio do processo 2011/22049-6, resultando nos dois artigos científicos que compõem a tese.

À minha família: Cesar Augusto B. Medolago e Lucas B. Medolago (irmãos); Catharina S. Medolago (avó); tios e primos queridos; Augusto Bronzatto e Joana M. A. Bronzatto (avós) que estiveram sempre presentes em pensamento.

Ao meu namorado Kleber Watanabe, quero de uma forma imensa, expressar meu muito obrigada pelo incentivo, paciência, apoio incondicional em todos os momentos e por compreender minhas ausências.

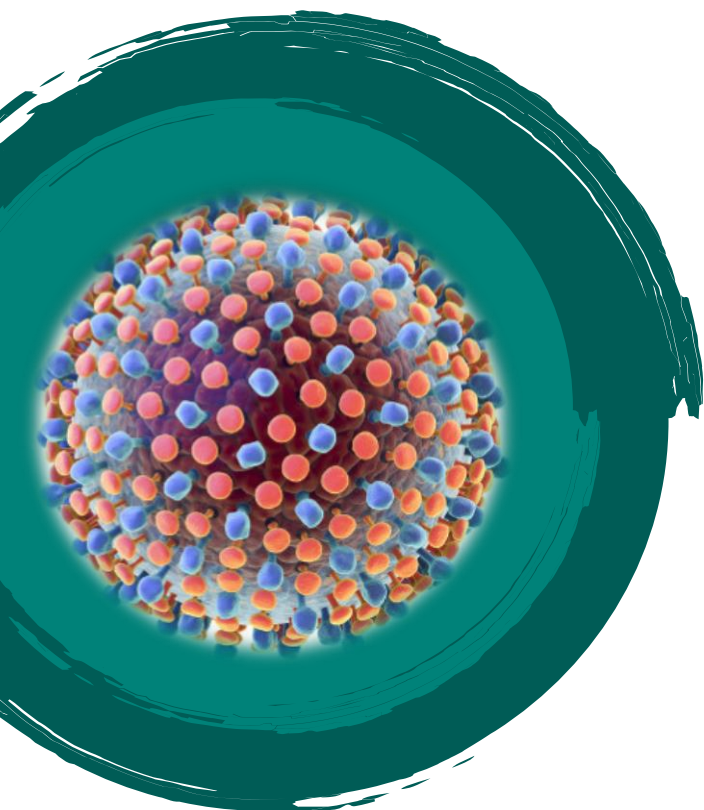
Às minhas queridas colegas de profissão e, acima de tudo, minhas grandes amigas Márcia Tonin Rigotto Carneiro e Mari Nilce Peres, pelo carinho, dedicação a mim, preocupação e por contribuírem para minha formação profissional e pessoal.

A todos os meus amigos por compreenderem minhas ausências.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização desse estudo e que, involuntariamente, eu possa ter esquecido de mencionar.

Sumário

Artigo 1: Revisão - Manifestações reumatológicas na hepatite C	1
Artigo 2: Polimorfismos <i>HLA-DRB1</i> e manifestações reumatológicas na hepatite C crônica.....	24
Artigo 3: HPA-3 polymorphism as a risk factor for manifestations in hepatites C.....	34
Anexo I: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.....	38
Anexo II: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	43
Anexo III: Ficha de Coleta de Dados.....	45



Manifestações reumatológicas na hepatite C

[ARTIGO 1 - REVISÃO]

Status: a ser submetido a um periódico científico nacional



MANIFESTAÇÕES REUMATOLÓGICAS NA HEPATITE C CRÔNICA

[REVISÃO]

RESUMO

A hepatite C tem sido associada a várias manifestações extra-hepáticas, principalmente as reumatológicas (MR-VHC). Muitos estudos, trazem a artralgia ou poliartralgia como o sintoma mais descrito e frequente (6% a 20%), caracterizada por dores articulares bilaterais e simétricas, envolvendo principalmente joelhos, dedos, costas e, mais raramente, cotovelos e tornozelos. As manifestações reumatológicas associadas à hepatite C crônica frequentemente são caracterizadas por alterações clínico-sorológicas que se sobrepõem a sintomatologia de doenças difusas do tecido conjuntivo. Distinguir essas patologias é de extrema importância, pois o tratamento e acompanhamento clínico podem ser afetados se o diagnóstico não for preciso. Para tanto, é necessário compreender melhor a patogênese das manifestações reumatológicas da hepatite C, que pode estar associada a fatores genéticos como os polimorfismos dos antígenos plaquetários humanos (HPAs) e dos antígenos leucocitários humanos (HLAs), que já foram associados à infecção pelo VHC. Assim, esta revisão tem como objetivo mostrar as evidências disponíveis sobre manifestações reumatológicas na hepatite C crônica, abordando possíveis causas para o desenvolvimento. Esse conhecimento pode auxiliar na identificação de maior suscetibilidade dos indivíduos infectados ao desenvolvimento de manifestações reumatológicas e/ou de alguns desses polimorfismos serem indicativos de um curso mais grave da doença, possibilitando uma intervenção precoce, descoberta de novos marcadores e alvos terapêuticos.

Palavras-chave: hepatite C crônica, manifestações reumatológicas, HLA, HPA

INTRODUÇÃO

Hepatite é um termo que designa inflamação no fígado, sendo causada por diversos mecanismos, principalmente agentes infecciosos. Uma grande variedade de vírus causa as chamadas hepatites virais: A, B, C, D e E¹.

Em 1975, demonstrou-se, pela primeira vez, que a maioria dos casos de hepatites associados à transfusão não eram causados pelos vírus da Hepatite A (VHA) ou da Hepatite B (VHB). Essa forma da doença ficou conhecida como Hepatite não-A não-B até 1989, quando o vírus foi identificado, clonado e nomeado de Vírus da Hepatite C (VHC)¹.

O VHC é um vírus cujo genoma é constituído por uma fita simples de RNA, pertencente à família *Flaviviridae*. Sua alta atividade replicativa associada à ausência de atividade de reparo conduz a uma alta frequência de mutações. A heterogeneidade do seu genoma permite a distinção de sete genótipos designados por números (1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7), diversos subtipos, representados por letras do alfabeto (1a, 1b, 2a, 2b, 2c, 3a, 4a, 5a, 6a, 7a) e muitas *quasispecies*^{2,3}.

Mundialmente, os genótipos têm distribuição geográfica diferente, sendo os genótipos 1 (46%) e 3 (30%) os mais prevalentes, enquanto que os genótipos 2, 4, 5 e 6 representam 9%, 8%, 1% e 6% das infecções, respectivamente^{4,5}. O genótipo 7 foi observado em poucos indivíduos na África Central. O genótipo 1 é o mais prevalente na maioria dos países da Europa, enquanto o genótipo 2 tem maior prevalência na África Central. Já, o genótipo 3 é mais frequente na Índia, Paquistão, Bangladesh, Mianmar, Nepal, Tailândia, e países do norte da Europa. O genótipo 4 aparece mais na África Central e no Oriente Médio. Na África Austral o mais prevalente é o genótipo 5 e o genótipo 6 tem frequência mais alta no leste e sudeste da Ásia, no Laos e Vietnã⁵.

Conhecer a genotipagem do VHC responsável pela infecção é uma importante ferramenta na prática clínica². Além do desenvolvimento da vacina anti-VHC, a identificação e caracterização genética viral têm

implicações importantes na resposta ao tratamento^{2,6}. Os níveis séricos de RNA do VHC nos pacientes infectados com o genótipo 2 são menores do que nos infectados com genótipo 1, proporcionando diferentes respostas ao tratamento com interferon (INF). A taxa de resposta completa e sustentada em pacientes com genótipo 1 tratados com IFN- α é menor quando comparada às taxas de resposta de genótipos 2 e 4. As novas terapias conhecidas como antivirais de ação direta (DAAs) são mais eficientes no controle da infecção uma vez que utilizam como alvo as proteases ou polimerases do vírus. Além disso, os DAAs aprovados recentemente apresentam uma maior barreira à resistência viral, embora já tenham sido relatados alguns casos de resistência⁵.

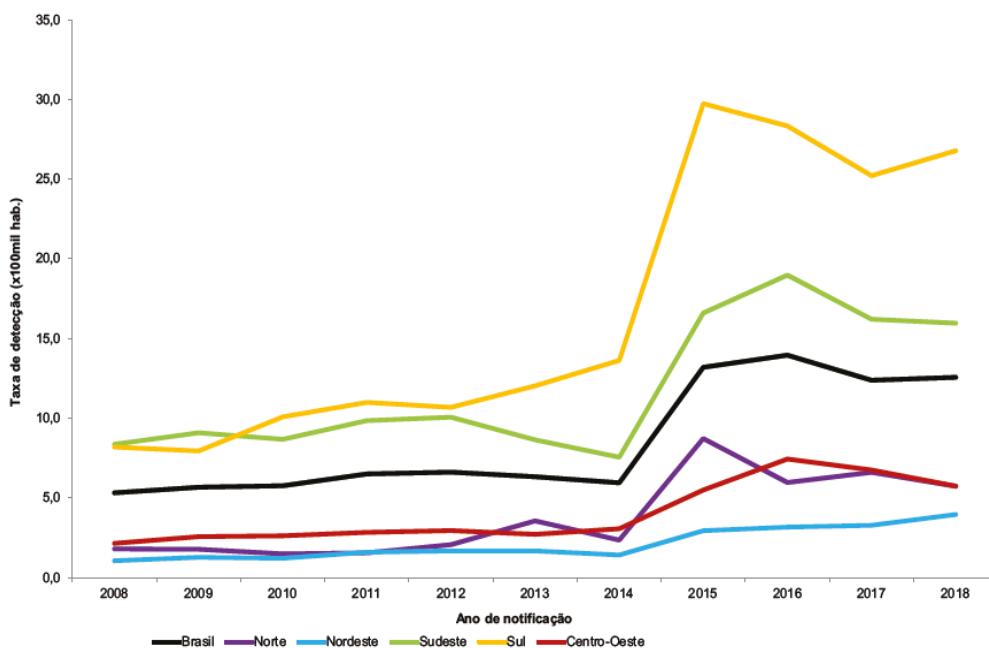
A Organização Mundial da Saúde estima que 71 milhões de pessoas no mundo sejam acometidas por hepatite C crônica e que, somente no ano de 2016, aproximadamente 399.000 evoluíram para óbito por cirrose e carcinoma hepatocelular. O tratamento antiviral pode curar mais de 95% dos infectados, podendo reduzir o risco de morte. No entanto, o acesso ao diagnóstico e tratamento ainda é baixo⁷.

No Brasil, cerca de 11.200 novos casos de infecções por VHC foram diagnosticados em 2013. Pressupõe-se que ocorra um declínio no número de infectados em 35% até 2030 (1.255.000), enquanto que, entre os anos de 2028 e 2032, o número de casos de cirrose compensada (325.900) e descompensada (45.000), carcinoma hepatocelular (19.100) e mortes relacionadas ao fígado (16.700) atingirá o pico⁸. Apesar da estimativa de mortalidade feita por Ferreira et al para o Brasil, houve uma estabilização do coeficiente de mortalidade por hepatite C nos últimos 10 anos, segundo o Boletim Epidemiológico – Hepatites Virais de 2019, sendo maiores nas regiões Sul (1,4 por 100.000 habitantes) e Sudeste (1,1 por 100.000 habitantes) comparado ao coeficiente nacional (0,8 óbito por 100.000 habitantes)^{8,9}.

De 1999 a 2018, foram detectados no Brasil, 359.673 casos de hepatite C que apresentavam pelo menos um dos marcadores (anti-VHC

ou RNA-VHC reagentes) e 174.703 casos que tinham ambos reagentes. Em 2015 houve uma mudança nas normas de notificação de casos de hepatite C. Antes os casos eram notificados somente quando os dois marcadores eram reagentes. Após a mudança, a notificação ocorre com apenas um deles positivo, resultando em uma elevação tendenciosa nas taxas de detecção em todo país a partir de 2015, sendo o Nordeste a região com menores taxas e o Sul com a maior, conforme **Figura 1**⁹.

Figura 1. Taxa de detecção de casos de hepatite C segundo região de residência e ano de notificação. Brasil, 2008 a 2018.



Fonte: Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico – Hepatites Virais. Brasília (DF); 2019.

O número de casos ainda é superior entre os homens. Desde 1999, entre os casos confirmados (228.695), 57,7% eram do gênero masculino e 42,3% do gênero feminino. Porém observou-se uma diminuição da razão entre os gêneros no período analisado. De 2,2, a razão passou para 1,4 em 1999 e para 1,2 em 2018⁹.

História Natural da Hepatite C

Para definir a história natural de qualquer patologia é necessário determinar: a data da infecção, o início da doença, um grupo sem infecção (controle), doentes não tratados e seguimento por um período de tempo, resultados finais esperados e inesperados e cofatores de progressão da doença por meio de registros rigorosos¹⁰.

A história natural da hepatite C é parcialmente conhecida, além de controversa. Ainda existem limitações no cumprimento dos critérios citados no parágrafo anterior como determinar o início da infecção, acompanhar clinicamente os doentes sem fornecer tratamento, uma vez que, hoje, há medicamentos disponíveis que curam a infecção e a multiplicidade de cofatores ou outras infecções que podem influenciar ou modificar o curso da doença¹⁰⁻¹².

Raramente é possível determinar com exatidão a data da infecção pelo VHC e fazer seguimento dos doentes, pois, a fase aguda da doença cursa de maneira assintomática na maioria dos casos. Somente de 20% a 30% dos adultos com infecção aguda desenvolvem sintomas clínicos (mal-estar, fraqueza, anorexia, icterícia, fadiga, letargia, dor abdominal, hepatoesplenomegalia leve, rash maculopapular, erupção cutânea e artralgia) que iniciam em 3 a 12 semanas após a exposição, sendo que o período de incubação do vírus é de 2 a 26 semanas^{4,10,13,14}.

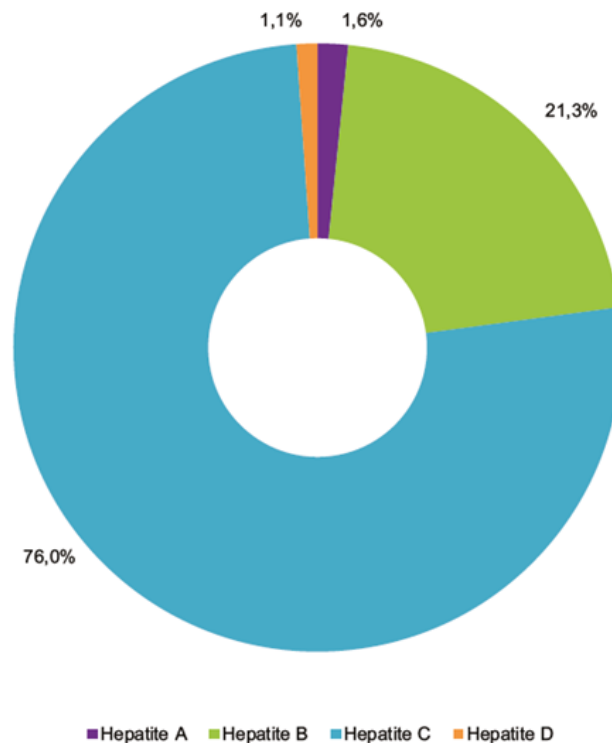
Dos casos agudos, 60 a 80% não clareiam o vírus e evoluem para cronicidade⁷. Geralmente, a transição da forma aguda para crônica também ocorre com ausência de sintomas e se define por aumento das aminotransferases ou permanência do RNA do vírus no sangue por mais de seis meses¹⁵.

Apesar da taxa de progressão ser lenta e assintomática, um traço fundamental da hepatite C crônica é o aumento do grau de fibrose no fígado, culminando na cirrose em 15% a 30% dos casos, em um tempo médio de infecção de 20 a 30 anos. Após tornar-se cirrótico, o risco de desenvolver insuficiência hepática, carcinoma hepatocelular ou morte relacionada ao comprometimento hepático é de 3% para cada desfecho.

Assim, a doença pode permanecer desconhecida até o comprometimento do fígado, suficiente para resultar no aparecimento dos primeiros sintomas decorrentes da descompensação hepática, com quadro de ascite, hemorragia digestiva alta secundária a varizes esofágicas ou gastropatia portal hipertensiva, síndrome hepatorenal e encefalopatia hepática^{4,7,13,15,16}.

No Brasil, ocorreram 70.671 óbitos por causas básicas e associados às hepatites virais (A, B, C e D) e a infecção pelo VHC foi responsável por 76% dessas mortes, conforme **Figura 2**⁹.

Figura 2. Distribuição dos óbitos por causa básica e associada às hepatites virais segundo agente etiológico. Brasil, 2000 a 2017.



Fonte: Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico – Hepatites Virais. Brasília (DF); 2019.

Todo o processo de avanço da doença pode ser influenciado não somente por **fatores virais** (carga viral, genótipo e multiplicidade de *quasispecies*, coinfeção com o vírus da hepatite B – VHB e da

imunodeficiência humana – HIV), mas também por **fatores do hospedeiro** (tempo de infecção, sexo, etnia, obesidade, esteatose, hemocromatose, esquistossomose, sobrecarga de ferro, imunossupressão, resistência insulínica e diabetes, genética, níveis de alanina aminotransferase – ALT) e **fatores ambientais** (consumo de álcool, tabagismo, uso de *Cannabis* e medicamentos)^{4,11,13}.

Manifestações Extra-hepáticas

A infecção crônica pelo VHC evolui de maneira silenciosa em relação ao sofrimento hepático, contudo, manifestações extra-hepáticas podem ocorrer em até 74% dos doentes^{17,18}. O vírus limita ou retarda o início da resposta inata pois tem uma alta taxa de replicação do genoma sem correção, gerando mutações que fazem com que o VHC evite o reconhecimento imunológico. Devido à demora de uma resposta imune eficaz, o vírus estabelece uma infecção de forma generalizada no fígado, tecidos e células extra-hepáticas¹⁹.

Além disso, há uma desregulação do sistema imunológico devido ao linfotropismo do VHC, responsável por diferentes doenças autoimunes e/ou linfoproliferativas, ou do estado inflamatório crônico que explica as complicações cardio-metabólicas e distúrbios neurocognitivos que podem afetar gravemente o desfecho geral dos pacientes²⁰.

O processo explica-se por mecanismos como injúria direta citopática, lesão causada por imunocomplexos, indução de linfócitos monoclonais ou policlonais, liberação de citocinas, como interferons e fator de necrose tumoral, e a ativação de linfócitos citotóxicos ou formação de autoanticorpos²¹.

Ramos-Casals et al, comparou os padrões de doenças autoimunes de 180 pacientes com VHC positivo com doenças autoimunes de outros 180 indivíduos VHC negativo (controle) e observou, em sua análise imunológica, que o grupo em estudo apresentou uma menor prevalência de anticorpos anti-nucleares, anti-ENA e anti-DNA, porém uma

grande frequência de fator reumatóide, crioglobulinemia e hipocomplementemia²².

Após a descoberta do VHC em 1989, a primeira condição reconhecida como um fator complicador da infecção crônica foi a crioglobulinemia mista que é uma vasculite sistêmica secundária à deposição de complexos imunes e complementos circulantes (crioglobulinas policlonais) nos pequenos vasos, caracterizada por uma tríade clínica típica: púrpura, fraqueza e artralgias. Artrite e neuropatia periférica também podem ser observadas, onde o comprometimento das articulações é simétrico e raramente há deformidade^{20,23}.

Com base em estudos epidemiológicos, clínico-patológicos, virológicos e laboratoriais, as manifestações extra-hepáticas podem ser classificadas considerando associação com o vírus, conforme **Tabela 1**^{20,24}.

Tabela 1. Principais manifestações extra-hepáticas, classificadas de acordo com o poder de associação com a infecção pelo VHC.

Forte associação

- Crioglobulinemia mista/ vasculite crioglobulinêmica
- Linfoma não-Hodgkin de células B

Associação significativa

- Diabetes mellitus tipo 2;
- Resistência à insulina
- Glomerulonefrite
- Insuficiência renal
- Fadiga
- Comprometimento cognitivo
- Depressão
- Qualidade de vida prejudicada
- Desordens cardiovasculares (acidente vascular cerebral, doença cardíaca isquêmica)
- Síndrome de sicca
- Artralgia / mialgia
- Produção de auto-anticorpos (crioglobulinas, fator reumatóide antinuclear, anticardiolipina, anti-tireóide e músculo anti-liso)
- Gamopatas monoclonais
- Trombocitopenia imune
- Porfiria cutânea tarda
- Líquen plano

Possível associação

- Poliartrite
- Prurido
- Fibromialgia
- Polirradiculoneuropatia crônica
- Alveolite pulmonar

Associação anedótica

- Polimiosite
- Dermatomiosite
- Poliarterite nodosa
- Psoríase
- Úlcera corneana de Mooren
- Eritema nodoso

Manifestações Reumatológicas

O linfotropismo e a estimulação crônica do sistema imunológico por diversas proteínas do VHC podem ser responsáveis pela produção de autoanticorpos. Devido à autoimunidade, manifestações extra-hepáticas reumatológicas foram relatadas em até dois terços dos infectados e simulam doenças autoimunes e reumáticas, propriamente ditas, que envolvem o sistema locomotor²⁵⁻²⁹.

As manifestações reumatológicas associadas ao VHC (MR-VHC) já descritas na literatura compreendem: fasciite palmar e plantar, mialgias, calcaneodínea bilateral, fibromialgia, tireoidite autoimune (Hashimoto), síndrome de Sjögren, vasculites sistêmicas, crioglobulinemia mista, anticorpo antinuclear (FAN), anticorpo antimúsculo liso, anticorpo antitireoide, anticorpos antifosfolípidos, fator reumatoide, artrite, artralgia, livedo reticular, neuropatia periférica, síndrome do túnel do carpo, fenômeno de Raynaud, olhos secos, boca seca e úlceras orais²⁹.

Em 1998, Buskila et al encontraram 31% de manifestações reumatológicas em 90 indivíduos VHC positivos, sendo as mais prevalentes: artralgia (9%), artrite (4%), crioglobulinemia (11%), síndrome sicca (8%) e mialgia (4%)³⁰.

Em 2014, Sayiner et al descreveram que manifestações reumatológicas podem ser observadas entre 2% a 38% dos pacientes, incluindo artralgia (23%), parestesia (17%), mialgia (15%), prurido (15%), e síndrome de sicca (11%). Essa variabilidade ocorre, pois depende da região geográfica onde o estudo foi feito e do seu delineamento²⁶.

Grande parte dos estudos, traz a artralgia ou poliartralgia como o sintoma mais descrito e frequente (6% a 20%), caracterizada por dores articulares bilaterais e simétricas, envolvendo principalmente joelhos, dedos, costas e, mais raramente, cotovelos e tornozelos. Em pacientes com crioglobulinemia mista, a artralgia pode ser observada em 30-70% e é mais presente naqueles que apresentam vasculite em comparação com aqueles sem vasculite^{26,31,32}.

Do mesmo modo, a artrite ligada ao VHC também pode estar ou não associada à crioglobulinemia mista²⁶. Esta forma é menos comum (<5%) e envolve pequenas articulações associadas à síndrome do túnel do carpo e tenossinovite palmar²⁸. O mecanismo de desenvolvimento de artrite causado pela infecção pode ser explicado pela invasão direta do vírus no tecido sinovial, pela reposta imune ao vírus na sinóvia, ou haver uma inflamação no líquido sinovial desencadeada pelo complexo imune induzido por crioglobulina²⁶.

A artrite não-erosiva oligoarticular ou poliarticular do VHC pode imitar clinicamente a artrite reumatoide e alguns doentes até preenchem os critérios do Colégio Americano de Reumatologia (ACR) para classificação e diagnóstico da Artrite Reumatóide, tornando difícil o diagnóstico diferencial^{25,32}.

Como somente as manifestações clínicas não propiciam a distinção entre as duas patologias, outros métodos diagnósticos como a detecção de anormalidades sorológicas podem ser úteis²⁵.

As crioglobulinas e o fator reumatóide (FR) são os autoanticorpos mais presentes nos doentes com hepatite C crônica, respectivamente, 60% a 80% e 70%. Em pacientes com AR, a positividade do FR é de aproximadamente 70% a 80% e na AR-VHC está entre 54% e 82%. Assim, a positividade desses autoanticorpos é inespecífica, não auxiliando no diagnóstico diferencial^{25,26,29}.

O anticorpo anti-peptídeo citrulinado cíclico (anti-CCP) vem sendo considerado mais específico para AR (96% a 98%), pois estão presentes no soro da maioria dos pacientes (75% a 80%) com essa patologia e raramente em outras doenças, como a hepatite C^{26,28,29}.

Na população estudada por Bombardieri et al, evidenciou-se que esses anticorpos estavam ausentes no soro de indivíduos com comprometimento articular devido à hepatite C crônica e presentes em indivíduos com AR, enquanto que o FR esteve presente nos dois grupos²⁵.

A realização desse exame laboratorial pode ser de grande

utilidade para predizer sobre o desenvolvimento de Artrite Reumatoide, já que a citrulinização e a produção de anticorpos anti-CCP podem estar presentes antes do desenvolvimento dos sintomas, e/ou discriminar o diagnóstico de indivíduos com artrite reumatóide dos portadores de artropatia associada ao vírus C^{25,33}

Independente da manifestação reumatológica, é de extrema importância para a prática clínica dos reumatologistas e clínicos, distinguir aquelas causadas pelo VHC (MR-VHC) daquelas relacionadas às doenças difusas do tecido conjuntivo (MR-DFTC)²⁶, uma vez que a abordagem terapêutica geralmente é diferente e pode refletir uma doença hepática não diagnosticada³⁴.

Assim, esta revisão tem como objetivo mostrar as evidências disponíveis sobre manifestações reumatológicas na hepatite C crônica, abordando possíveis causas para o desenvolvimento.

Fatores Genéticos

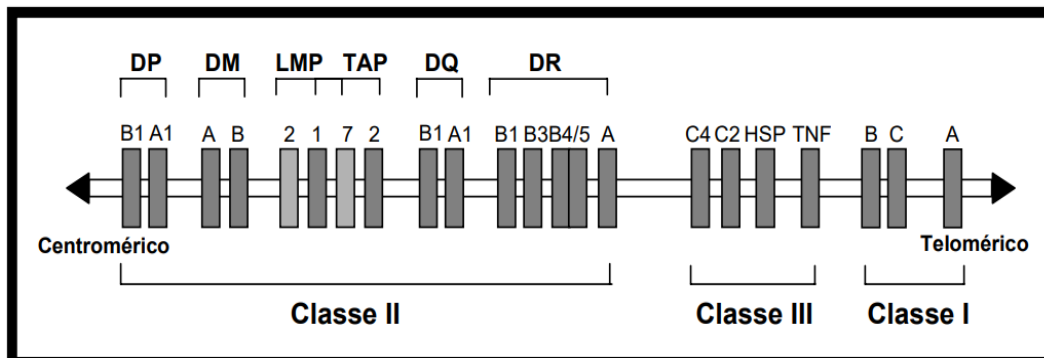
Na busca por elucidações para os mecanismos de autoimunidade e, conseqüentemente, o aparecimento de sintomas extra-hepáticos causados pelo VHC, autores têm pesquisado o perfil genético dos indivíduos³⁵⁻³⁹.

Antígeno Leucocitário Humano (HLA)

O fator genético que é mais estudado em uma grande variedade de patologias com etiologias diferentes (autoimunes, infecciosas, neoplásicas e idiopáticas) é o polimorfismo do Antígeno Leucocitário Humano (HLA)⁴⁰.

O sistema HLA (da sigla em inglês: *Human Leukocyte Antigen*) é composto por genes do Complexo Principal de Histocompatibilidade na espécie humana e foram agrupados em três regiões e subdivididos, de acordo com a localização no braço curto do cromossomo 6, em classe I, II e III, conforme **Figura 3**⁴⁰.

Figura 3. Estrutura gênica do Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH), humano no braço curto do cromossomo 6.



Fonte: Adaptado de Donadi, 2000.

Na região de classe I são conhecidos os *loci* HLA-A, B, C, E, F, G, H, J, K e L e a região de classe II contém os genes *HLA-DRA*; *DRB1-9*; *DQA1,2*; *DQB1,3*; *DOA*, *DOB*, *DMA*; *DMB*; *DPA1,2*; *DPB1,2*; *TAP1,2*; *LMP2,7* e *MICA-E*. Os genes *HLA-DR*, *DQ* e *DP* são responsáveis pela rejeição a enxertos e pela apresentação de peptídeos aos receptores dos linfócitos T⁴⁰.

Há vários estudos associando a clínica da infecção pelo VHC e antígenos HLA classe I e II, mas os resultados são discutíveis. Dependendo da população estudada, certos polimorfismos estão relacionados a uma evolução mais rápida da hepatopatia e outros parecem proteger o indivíduo infectado⁴¹⁻⁴⁴.

Alelos HLA de classe I e II, vêm sendo relacionados a depuração viral ou persistência do vírus, evolução da fibrose hepática ou proteção contra o dano hepático, resposta terapêutica baseada em interferon, e manifestações extra-hepáticas^{43,45-48}. Apesar de estudos demonstrarem relação de variantes do HLA com a resposta à infecção pelo vírus C, não há estudos que avaliem associação do HLA diretamente com comprometimento reumatológico, principalmente na população brasileira infectada pelo vírus.

Sabe-se também que, em muitas doenças autoimunes, a produção de autoanticorpos ocorre com maior frequência em portadores de

antígenos específicos do sistema HLA⁴⁶. Várias linhas de evidência mostraram que moléculas de classe II indicam maior suscetibilidade a artrite reumatoide (AR), principalmente moléculas codificadas pelos genes *DRB1*⁴⁹.

Assim como ocorre na hepatite C, alguns alelos HLA estão ligados a suscetibilidade à AR enquanto outros parecem conferir proteção contra a doença, variando sua expressão conforme a população estudada⁴⁹. Os alelos que parecem conferir suscetibilidade são *DRB1**0401 e *0404 em caucasianos, *DRB1**0405 em indivíduos do leste asiático, *DRB1**0101 índios asiáticos e judeus da Europa central e oriental, *DRB1**1001 em espanhóis e negros da África do Sul e *DRB1**1402 em nativos norte-americanos. Já os alelos que parecem conferir proteção contra o desenvolvimento de AR são: *DRB1**0103, *0402, *1102, *1103, *1301, *1302 e *1304^{49,50}.

Nesse contexto, a avaliação, individual ou em associação, desses polimorfismos genéticos pode ser útil no diagnóstico diferencial entre manifestações reumatológicas ligadas ao vírus das ligadas à artrite reumatóide e, na identificação de maior suscetibilidade ao comprometimento articular e indicação de um curso mais grave da hepatite C^{45,51-53}.

Antígeno Plaquetário Humano (HPA)

Os HPAs são antígenos constituídos por segmentos proteicos polimórficos que residem no interior de glicoproteínas (GP) expressas na membrana plaquetária⁵⁴⁻⁵⁶ e também em células endoteliais, fibroblastos, entre outros⁵⁷⁻⁶⁰. Atualmente, estima-se que existam, aproximadamente, 24 tipos de antígenos HPA, sendo que os mais estudados pertencem à família das integrinas e são denominados HPA-1, -2, -3, -4 e -5, conforme **figura 3**⁵⁴⁻⁵⁶.

- Sistema HPA-1: é clinicamente o mais importante dos sistemas, pois é o antígeno mais frequentemente associado à

celulares, são mediadoras do estágio inicial da função plaquetária, as quais também intervêm na agregação das mesmas, através da ligação do fibrinogênio e de outras proteínas de adesão^{54,55}.

Os polimorfismos dos antígenos plaquetários humanos (HPAs), já foram associados a doenças como púrpura pós-transfusional, trombocitopenia neonatal aloimune, púrpura neonatal aloimune, infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, trombose venosa e artrite reumatóide⁶⁵. Mais recentemente, foram associados à infecção pelo VHC e ao aumento no grau de fibrose do fígado^{52,66}, porém não há estudos sobre associação de HPA com manifestações reumatológicas na hepatite C.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os últimos anos foram marcados por importantes avanços terapêuticos e descobertas sobre a história natural da hepatite C, no entanto, ainda há dificuldades no controle e erradicação da infecção pelo VHC no mundo, principalmente em países mais pobres, onde suas consequências geram grande ônus aos sistemas de saúde³⁴.

A infecção pelo VHC cursa de maneira assintomática e os primeiros sinais podem aparecer nos estágios mais avançados da doença devido à cirrose e câncer hepático. Todavia, muitos pacientes apresentam manifestações extra-hepáticas que envolvem vários sistemas, dentre eles o sistema músculo-esquelético. As manifestações reumatológicas associadas à hepatite C crônica frequentemente são caracterizadas por alterações clínico-sorológicas que se sobrepõem a sintomatologia de doenças difusas do tecido conjuntivo⁶⁷. Distinguir essas patologias é de extrema importância, pois o tratamento e acompanhamento clínico podem ser afetados se o diagnóstico não for preciso. Para tanto, é necessário compreender melhor a patogênese das manifestações reumatológicas da hepatite C, que pode estar associada a fatores genéticos.

Esse conhecimento pode auxiliar na identificação de maior suscetibilidade dos indivíduos infectados ao desenvolvimento de

manifestações reumatológicas e/ou de alguns desses polimorfismos serem indicativos de um curso mais grave da doença, possibilitando uma intervenção precoce, descoberta de novos marcadores e alvos terapêuticos^{34,51-53}.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. Hepatitis C. 2002. Disponível em: <http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/Hepc.pdf>.
2. Perone C, Del Castilho DM, Pereira GL, Carvalho NO, Januário JN, Teixeira R. Alta prevalência de genótipo 1 em portadores de hepatite c crônica em belo Horizonte, MG. Rev Sociedade Bras Med Tropical. 2008; 41(3):238-42.
3. Smith D et al. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment. Hepatology. 2014; 59(1):318-27.
4. Lingala S, Ghany MG. Natural history of hepatitis C. Gastroenterol Clin N Am. 2015; 44:717-34.
5. Tsukiyama-Kohara K, Kohara M. Hepatitis C Virus: Viral Quasispecies and Genotypes. Int J Mol Sci. 2018; 19(1): 1-8.
6. Zein NN. Clinical Significance of Hepatitis C Virus. Clin Microbiol Rev. 2000; 13(2):223-35.
7. Global Hepatitis Report 2017. Geneva: World Health Organization; 2017.
8. Ferreira PRA, Brandão-Mello CE, Estesc C, Gonçalves FL, Jr, Coelho HSM, Razavi H, et al. Disease burden of chronic hepatitis C in Brazil. Braz J Infec Dis. 2015; 19(4):363-8.
9. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico – Hepatites Virais. Brasília (DF); 2019.
10. Lopes RMM. História natural da hepatite C. [Dissertação]. Porto 2015. Universidade do Porto. 2015. 33 p. Mestrado Integrado em Medicina.
11. Silva GF, Coelho KLR, Nishimura NF, Soares EC. Progression of liver fibrosis in blood donors infected with Hepatitis C virus. Romanian Journal of Gastroenterology. 2004;13(4):291-7.
12. Vasconcelos RR, Tengan FM, Cavalheiro NP, Ibrahim K, Pereira H, Barone AA. Fatores associados às formas evolutivas graves da

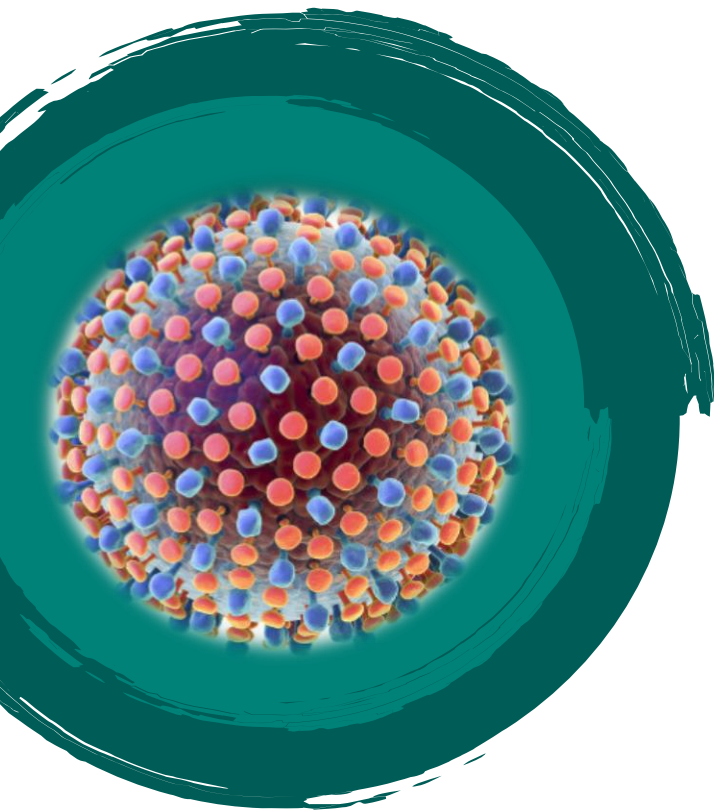
- infecção crônica pelo vírus da hepatite C. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2006; 39(5):433-8.
13. Chen SL, Morgan TR. The Natural History of Hepatitis C Virus (HCV) Infection. *Int J Med Sci*. 2006; 3(2):47-52.
 14. Wong T, Lee SS. Hepatitis C: a review for primary care physicians. *CMAJ*. 2006; 174(5):649-59.
 15. Seef LB. Natural History of Chronic Hepatitis C. *Hepatology*. 2002; 36(5/1):35-46.
 16. Bragg DA, Crowl A, Manlove E. Hepatitis C: a new era. *Prim Care Clin Office Pract*. 2017; 44:631-42.
 17. Gumber SC, Chopra S. Hepatitis C: a multifaceted disease. *Ann Intern Med*. 1995; 123:615-20.
 18. Oliveira IMX, Silva RSU. Rheumatological manifestations associated with viral hepatitis B or C. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2019; 52:1-7.
 19. Antonelli A, Pistello M. Editorial: New therapies, markers and therapeutic targets in Hncic infection, and HCV extrahepatic manifestations. *Current Drug Targets*. 2016; 17(7): 752-5.
 20. Ferri C, Ramos-Casals M, Zignego AL, Arcaini L, Roccatello D, Antonelli A, et al. International diagnostic guidelines for patients with HCV-related extrahepatic manifestations. A multidisciplinary expert statement. *Autoimmunity Reviews*. 2016; 15:1145-60.
 21. Hajjar LA, Rosa TT, Veiga JPR. Manifestações extra-hepáticas da hepatite C. *Brasília Médica*. 1999; 36(3/4):96-105.
 22. Ramos-Casals M, Jara LJ, Medina F, Rosas J, Calvo-Alen J, Mana J, et al. Systemic autoimmune diseases co-existing with chronic hepatitis c virus infection (the hispamec registry): patterns of clinical and immunological expression in 180 cases. *Journal of Internal Medicine*. 2005; 257:549-57.
 23. Asano NMJ, Teixeira GJA, Mendonça FMS, Marques CDL, Duarte ALBP. Crioglobulinemia. *Revista Brasileira de Medicina*. 2018:28-31.
 24. Cacoub P, Gragnani L, Comarmonda C, Zignego AL. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C virus infection. *Digestive and Liver Disease*. 2014; 46:165-73.
 25. Bombardieri M, Alessandri C, Labbadia G, Iannuccelli C, Carlucci F, Riccieri V, et al. Role of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in discriminating patients with rheumatoid arthritis from patients with

- chronic hepatitis C infection associated polyarticular involvement. *Arthritis Res Ther.* 2004; 6:137-41.
26. Sayiner ZA, Haque U, Malik MU, Gurakar A. Hepatitis C virus infection and its rheumatologic implications. *Gastroenterology & Hepatology.* 2014; 10:287-93.
 27. Palazzi C, D'Amico E, D'Angelo S, Gilio M, Olivieri I. Rheumatic manifestations of hepatitis C virus chronic infection: indications for a correct diagnosis. *World J Gastroenterol.* 2016; 22(4):1405-10.
 28. Cacoub P, Comarmond C, Desbois AC, Saadoun D. Rheumatologic manifestations of hepatitis C virus infection. *Clin Liver Dis.* 2017; 21:455–64.
 29. Rocha OM, Batista AAP, Medolago N, Silva GF. Manifestações reumatológicas da hepatite C. *JBM.* 2010; 98(2):37-42.
 30. Buskila D, Shnaider A, Neumann L, Lorber M, Zilberman D, Hilzenrat N, et al. Musculoskeletal manifestations and autoantibody profile in 90 Hepatitis C virus infected Israeli patients. *Seminars in Arthritis and Rheumatism.* 1998; 28:107-13.
 31. Cacoub P, Comarmond C. New insights into HCV-related rheumatologic disorders: a review. *Journal of Advanced Research.* 2017; 8:89-97.
 32. Zignego AL; Gragnani L, Giannini C, Laffi G. The hepatitis C virus infection as a systemic disease. *Intern Emerg Med.* 2012; 7(3):201-8.
 33. Nishimura K, Sugiyama D, Kogata Y, Tsuji G, Nakazawa T, Kawano S, et al. Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti–cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med.* 2007; 146(11):797-808.
 34. Fernandes B, Dias E, Mascarenhas-Saraiva M, Bernardes M, Costa L, Cardoso H, Macedo G. Rheumatologic manifestations of hepatic diseases. *Annals of Gastroenterology.* 2019; 32:352-60.
 35. Cacoub P, Poynard T, Ghillani P, Charlott F, Olivi M, Piette JC, et al. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C. *Arthritis & Rheumatism.* 1999; 42(10):2204–12.
 36. Buskila, D. Hepatitis C – Associated rheumatic disorders. *Rheum Dis Clin N Am.* 2009; 35:111–23.
 37. Ali A, Zein NN. Hepatitis C infection: a systemic disease with extrahepatic manifestations. *Cleveland Clinic Journal of Medicine.* 2005; 72(11):1005-19.

38. Cacoub P, Renou C, Kerr G, Hùe S, Rosenthal E, Cohen P, et al. Influence of HLA-DR phenotype on the risk of hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinemia. *Arthritis & Rheumatism*. 2001; 44(9):2118-24.
39. Czaja AJ, Carpenter HA, Santrach, PJ. Immunologic features and HLA associations in chronic viral hepatitis. *Gastroenterology*. 1995; 108:157-64.
40. Donadi EA. Como entender a nomenclatura e os mecanismos de associação entre os antígenos e os alelos de histocompatibilidade com as doenças. In: *Simpósio Associação do Sistema HLA com Doença no Brasil*. Janeiro, 2000; Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil; 2000. p. 7-18 (vol. 20).
41. Alric L, Fort M, Izopet J, Vinel JP, Charlet JP, Selves J, et al. Genes of the major histocompatibility complex class II influence the outcome of hepatitis C virus infection. *Gastroenterology*. 1997; 113(5):1675-81.
42. Minton EJ, Smillie D, Neal KR, Irving WL, Underwood JC, James V. Association between MHC class II alleles and clearance of circulating hepatitis C virus. Members of the Trent Hepatitis C Virus Study Group. *J Infect Dis*. 1998; 178(1):39-44.
43. Vejbaesya S, Songsivilai S, Tanwandee T, Rachaibun S, Chantangpol R, and Dharakul T. HLA association with hepatitis C virus infection. *Human Immunology*. 2000; 61: 348-3.
44. Shahin AA, Shaker OG, El Sayed M, Ali BM. Does human leukocyte antigen influence the risk of development and type of vasculitis in Egyptian patients with chronic hepatitis C virus infection? *The Egyptian Rheumatologist*. 2016; 38(4):307-12.
45. Cangussu LOF. Associação entre os antígenos leucocitários humano de classe II e a hepatite c crônica. Belo Horizonte: Faculdade de Medicina da UFMG; 2008 [acesso em: 2002 Jul 29].
46. Giannitti C, Morozzi G, D'Alfonso S, Bellisai F, Galeazzi M. Associazione tra genotipo virale, HLA e manifestazioni extra-epatiche dell'epatite C. *Reumatismo*. 2008; 60(3):192-8.
47. Sebastiani GD, Bellisai F, Cudai C, Rottoli P, Valensin PE, Pippi L, et al. Association of extrahepatic manifestations with HLA class II alleles and with virus genotype in HCV infected patients. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2005; 19(1/2):17-22.
48. Marangon AV, Silva GF, Moraes CFV, Grotto RMT, Pardini MIMC, Pauli DS, et al. Protective effect of HLA-DRB1*11 and predisposition of HLA-

- C*04 in the development of severe liver damage in brazilian patients with chronic hepatitis C virus infection. *Scandinavian Journal of Immunology*. 2012; 76(4): 440-7.
49. Louzada-Júnior P, Freitas MVC, Oliveira RDR, Deghaide NHS, Conde RA, M.B. Bertolo, et al. A majority of brazilian patients with rheumatoid arthritis HLA-DRB1 alleles carry both the HLA-DRB1 shared epitope and anti-citrullinated peptide antibodies Brazilian. *Braz J Med Biol Res*. 2008; 41(6):493-9.
 50. Mourad J, Monem F. Associação do alelo HLA-DRB1 com suscetibilidade a artrite reumatoide e gravidade da doença na Síria. *Rev Bras Reumatol* 2013; 53(1):47-56.
 51. Van Gaalen FA, Van Aken J, Huizinga TWJ, Schreuder GMT, Breedveld FC, Zanelli E, et al. Association between HLA class II genes and autoantibodies to cyclic citrullinated peptides (CCPs) influences the severity of rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism*. 2004; 50(7): 2113-21.
 52. Verdichio-Moraes CF, Toralles-Pereira C, Grotto RMT, Silva GF, Pardini MIMC. Allelic frequencies of HPA-1 to 5 human platelet antigens in patients infected with hepatitis C virus. *J Med Virol*. 2009; 81:757-9
 53. Thursz M, Yallop R, Goldin R, Trepo C, Thomas HC. Influence of MHC class II genotype on outcome of infection with hepatitis C virus. *Lancet*. 1999; 354: 2119-24.
 54. Kunicki TJ, Newman PJ. 1992. The molecular immunology of platelet proteins. *Blood*. 1992; 80:1386-404.
 55. Santoso S. Clinical impact of platelet glycoprotein polymorphism. *Vox Sang*. 2000; 78(2):121-4.
 56. Metcalfe P, Watkins NA, Ouwehand WH, Kaplan C, Newman P, Kekomaki R. Nomenclature of human platelet antigens. *Vox Sang*. 2003; 85(3):240-5.
 57. von dem Borne AE, von Riesz E, Verheugt FW, ten Cate JW, Koppe JG, Engelfriet CP, et al. Baka, a new platelet-specific antigen involved in neonatal allo-immune thrombocytopenia. *Vox Sang*. 1980; 39(2):113-20.
 58. Kawai Y. Expression of platelet alloantigens on human endothelial cells and HEL cells. *Thromb. Haemost*. 1987; 58:4.
 59. Newman P, Derbes RS, Aster RH. The human platelet alloantigens, PIA1 and PIA2, are associated with a leucine33/ proline33 amino acid

- polymorphism in membrane glycoprotein IIIa, and are distinguishable by DNA typing. *J Clin Invest.* 1989; 83:1778-81.
60. Giltay JC, Brinkman HJ, von dem Borne AE, van Mourik JA. Expression of the alloantigen Zwa (or P1A1) on human vascular smooth muscle cells and foreskin fibroblasts: a study on normal individuals and a patient with Glanzmann's thrombasthenia. *Blood.* 1989; 74(3):965-70.
 61. Mueller-Eckhardt C, Santoso S, Kiefel V. Platelet alloantigens – Molecular, genetic, and clinical aspects. *Vox Sang.* 1994; 67:89-93.
 62. Peterson JA, McFarland JG, Curtis BR, Aster RH. *Br J Haematol.* 2013; 161(1):3-14.
 63. Lucas GF, Metcalfe P. Platelet and granulocyte polymorphisms. *Transfus Med.* 2000; 10:157-74.
 64. Santoso S, Kiefel V. Human platelet-specific alloantigens: update. *Vox Sang.* 1998; 74(2):249-53.
 65. Palazzi C, D'Angelo S, Olivieri I. Hepatitis C virus-related arthritis. *Autoimmun Rev.* 2008; 8(1):48-51.
 66. Silva GF, Grotto RMT, Verdichio-Moraes CF, Corvino SM, Ferrasi AC, Silveira LVA, et al. Human Platelet Antigen genotype is associated with progression of fibrosis in chronic hepatitis C. *J Med Virol.* 2012; 84:56-60.
 67. Chogle AR. Diagnosis and management of rheumatic manifestations of hepatitis B, hepatitis C and immunodeficiency virus. *Indian Journal of Rheumatology.* 2019; 12(2):97-103.



Polimorfismos *HLA-DRB1* e manifestações reumatológicas na hepatite C crônica

[ARTIGO 2]

Status: a ser submetido a um periódico científico internacional



Polimorfismos *HLA-DRB1* e Manifestações Reumatológicas na Hepatite C Crônica

[ARTIGO 2]

RESUMO

A hepatite C tem sido associada a manifestações reumatológicas (MR-VHC). Clinicamente, a MR-VHC pode ser indistinguível dos sintomas que ocorrem nas doenças difusas do tecido conjuntivo (MR-DDTC), dificultando o diagnóstico diferencial. Fatores genéticos do hospedeiro, como os polimorfismos do Antígeno Leucocitário Humano (HLA), foram associados à infecção pelo HCV, no entanto, não há estudos que discriminem a MR-VHC e MR-DDTC. Assim, o objetivo do estudo foi verificar as associações entre polimorfismos *HLA-DRB1* e MR em pacientes com hepatite C crônica, buscando distinguir entre MR relacionada ao DDTC e MR relacionada ao VHC. Para tanto, participaram do estudo 152 indivíduos de ambos os sexos, com idade entre 18 e 80 anos e acometidos por hepatite C crônica. Foram incluídos apenas casos de RNA-VHC detectáveis, com identificação do genótipo do VHC, nenhum tratamento prévio para hepatite C (pacientes ingênuos) e estágio conhecido de fibrose ou diagnóstico clínico de cirrose por imagem. Foram excluídos os voluntários com coinfeção por VHB/HIV, insuficiência renal crônica, transplante de fígado ou rim, doenças hepáticas e outras doenças difusas do tecido conjuntivo, incluindo artrite reumatóide. Os pacientes foram submetidos a exame físico reumatológico e foi realizada tipagem de HLA classe II (*HLA-DRB1*) por PCR-SSO (“Oligonucleotídeos Específicos da Sequência de Reação em Cadeia da Polimerase”). Foi observado um número significativo de pacientes com queixas reumatológicas (73%) não atribuídas a outras causas. Não há associação de suscetibilidade entre alelos *HLA-DRB1* e MR. O alelo *DRB1* *08 parece conferir proteção contra MR na hepatite C crônica e o alelo *15 pode ter um efeito protetor contra danos no fígado.

Palavras-chave: hepatite C, VHC, manifestações reumatológicas, HLA-DRB1

INTRODUÇÃO

A hepatite C é uma doença de prevalência global^{1,2} e estima-se que 71 milhões de pessoas tem infecção crônica pelo vírus da hepatite C (VHC)³. Destas, um número significativo desenvolve cirrose e carcinoma hepatocelular e, aproximadamente 399.000 progridem para óbito³.

Mesmo evoluindo de maneira assintomática em relação aos danos hepáticos, a infecção crônica pelo VHC tem sido associada a várias manifestações extra-hepáticas, entre elas, as reumatológicas^{4,5}. De maneira geral, manifestações reumatológicas (MR) abrangem sinais, sintomas ou afecções envolvendo o sistema locomotor, alterações ou manifestações que simulem as doenças difusas do tecido conjuntivo como sensações parestésicas, fenômeno de Raynaud, vasculite, nódulos subcutâneos, mialgia, fraqueza muscular, dor lombar não mecânica, artralgia, artrite, entre outras⁶.

Clinicamente, MR relacionada ao VHC (MR-VHC) pode ser indistinguível da sintomatologia apresentada nas doenças difusas do tecido conjuntivo (MR-DDTC), dificultando o diagnóstico diferencial. Como somente as manifestações clínicas não propiciam a distinção entre as duas doenças, outros métodos diagnósticos podem ser úteis⁷. O fator reumatoide (FR) e as crioglobulinas são frequentemente detectados em cerca de 40% a 70% dos doentes com hepatite C crônica, portanto, não auxiliam no diagnóstico diferencial⁶⁻⁸.

Na busca por esclarecimentos sobre os mecanismos envolvidos no aparecimento dos sintomas extra-hepáticos, estudos tem pesquisado o perfil genético dos indivíduos e muitos têm associado a clínica da infecção pelo VHC aos Antígenos Leucocitários Humanos (HLA) de classe I e II⁹⁻¹³, contudo, não existem estudos a respeito da distinção entre MR-VHC e MR-DDTC.

Nas doenças autoimunes, a produção de auto-anticorpos é observada com frequência em portadores de antígenos específicos do sistema HLA¹⁴. As moléculas de classe II indicam maior suscetibilidade a MR-DDTC, principalmente aquelas codificadas pelos genes *DRB1*¹⁵⁻¹⁷.

Nesse contexto, o presente estudo teve por objetivo verificar associações entre polimorfismos *HLA-DRB1* e manifestações reumatológicas em pacientes com hepatite C crônica, buscando a distinção entre MR-VHC e MR-DDTC.

MÉTODOS

Cento e cinquenta e dois pacientes com hepatite C crônica atendidos no Ambulatório de Hepatites Virais da disciplina de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, Brasil, foram incluídos neste estudo. Os participantes incluídos eram de ambos os sexos, com idade entre 18 e 80 anos, com RNA-VHC detectável e identificação do genótipo do VHC, nenhum tratamento prévio para hepatite C (*naïves*) e com estadiamento conhecido de fibrose por biopsia hepática ou diagnóstico clínico por imagem de cirrose. Foram excluídos os voluntários com coinfeção VHB/HIV, insuficiência renal crônica, transplante hepático ou renal, outras doenças hepáticas e doenças difusas do tecido conjuntivo (DDTC), inclusive artrite reumatoide, conforme Critério de Classificação da Artrite Reumatoide¹⁸.

Avaliação Reumatológica

Os pacientes foram submetidos a exame físico reumatológico, por profissional habilitado, de acordo com os seguintes parâmetros: presença de sensações parestésicas, fenômeno de Raynaud, vasculite, nódulo subcutâneo, mialgia, fraqueza muscular, dor lombar não mecânica, artralgia e artrite⁶. Testes laboratoriais para avaliação do fator reumatóide, anti-CCP e avaliação radiológica foram realizados para auxiliar na caracterização das manifestações reumatológicas.

Fator Reumatóide

As amostras de sangue dos pacientes foram submetidas à análise laboratorial para determinação qualitativa e semiquantitativa do fator reumatoide utilizando o kit Reumalátex (Labtest Diagnóstica S/A, Lagoa Santa, MG, Brasil), conforme instruções do fabricante.

Anti-CCP

A análise semi-quantitativa do anti-CCP foi realizada por meio de Imunoensaio enzimático (ELISA) com o kit QUANTA Lite™ CCP3.1 (INOVA Diagnostic Inc., San Diego, CA, EUA), para detectar anticorpos anti-CCP3 IgG e IgA no soro dos pacientes, de acordo com as instruções do fabricante.

Genotipagem HLA-DRB1

O ácido desoxirribonucléico (DNA) foi isolado do sangue total usando o Sistema de Purificação de DNA Wizard® Minipreps. A tipagem HLA classe II (HLA-DRB1) foi realizada por PCR-SSO (*“Polymerase Chain Reaction-sequence Specific Oligonucleotides”*), utilizando o kit One Lambda (Biometrix Diagnostic Ltda, Curitiba, Brasil), de acordo com as instruções do fabricante.

Análise Estatística

Odds ratio (OR) e intervalo de confiança de 95% (IC 95%) foram calculados para estimar o poder das associações entre os grupos. O teste do qui-quadrado (χ^2), o teste exato de Fisher e o teste t foram utilizados para análise estatística. O valor de $P \leq 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

Considerações Éticas

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Estado de São

Paulo aprovou este estudo (Protocolo 3727/2010), de acordo com as disposições da Declaração de Helsinque de 1964, revisada em 1975, 1983, 1989, 1996 e 2000. Todos os participantes do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido individualmente.

RESULTADOS

As características clínicas e epidemiológicas dos pacientes estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Características clínicas e epidemiológicas dos pacientes com hepatite C crônica, distribuídos por presença ou ausência de manifestações reumatológicas.

Variáveis	MR+ n = 111 (%)	MR- n = 41 (%)	P-value
Idade (anos), média	49,4 ± 10,12	46,6 ± 10,4	0,0359 [†]
Gênero			
Masculino	54 (65,0)	29 (35,0)	0,0249
Feminino	57 (82,6)	12 (17,4)	
Etnia			
Branco	98 (72,6)	37 (27,4)	1,0000
Não-branco	13 (76,5)	4 (23,5)	
Genótipo VHC			
1	77 (74,0)	27 (26,0)	0,8280
Não 1	34 (70,8)	14 (29,2)	
Fibrose[‡]			
F0 – F2	50 (66,7)	25 (33,3)	0,1186
F3 – F4	61 (79,2)	16 (20,8)	

Teste exato de Fisher ou Teste qui-quadrado (χ^2); $P \leq 0,05$ é considerado estatisticamente significativo; [†]Teste t; [‡]Agrupamento histológico; MR+/-: presença/ ausência de manifestações reumatológicas.

Manifestações reumatológicas não relacionadas à coexistência de outras doenças autoimunes foram observadas em 111 (73%) pacientes, dentre elas artralgia (50,4%), mialgia (44,1%), fenômeno de Raynaud (38,7%), sensações parestésicas (38,7%), fraqueza muscular (37,8%), dor lombar (24,3%), vasculite (18,9%), artrite (14,4%) e nódulo subcutâneo

(1,8%).

As frequências alélicas do HLA-DRB1 foram distribuídas entre os grupos com presença e ausência de manifestações reumatológicas e associação significativa foi observada (Tabela 2). Não houve significância estatística quando os resultados foram distribuídos por gênero ou genótipo viral (dados não mostrados).

Tabela 2. Frequências alélicas do *HLA-DRB1* em pacientes com hepatite C crônica, distribuídas pela presença ou ausência de manifestações reumatológicas.

<i>HLA-DRB1</i>	MR+	MR-	Análise Estatística	
Alelo	2n = 222 (%)	2n = 82 (%)	OR (IC 95%)	P-value
*01	11 (5,0)	7 (8,5)	0,56 (0,21 – 1,49)	0,2745
*03	28 (12,6)	12 (14,7)	0,84 (0,41 – 1,75)	0,7026
*04	36 (16,2)	16 (19,5)	0,80 (0,42 – 1,53)	0,4964
*07	28 (12,6)	11 (13,4)	0,93 (0,44 – 1,97)	0,8482
08	6 (2,7)	7 (8,5)	0,30 (0,10 – 0,91)	0,0483
*09	2 (0,9)	0 (0)	1,87 (0,09 – 39,41)	1,0000
*10	3 (1,4)	1 (1,2)	1,11 (0,11 – 10,83)	1,0000
*11	28 (12,6)	6 (7,3)	1,83 (0,73 – 4,59)	0,2240
*12	5 (2,3)	2 (2,5)	0,92 (0,18 – 4,85)	1,0000
*13	34 (15,3)	10 (12,2)	1,30 (0,61 – 2,77)	0,5837
*14	14 (6,3)	3 (3,7)	1,77 (0,50 – 6,34)	0,5742
*15	23 (10,3)	6 (7,3)	1,46 (0,57 – 3,74)	0,5137
*16	4 (1,8)	1 (1,2)	1,49 (0,16 – 13,50)	1,0000

Teste exato de Fisher; OR: razão de chance; IC: intervalo de confiança; * considera-se $P \leq 0,05$ relação estatisticamente significativa.

Quando a frequência alélica *HLA-DRB1* foi distribuída de acordo com o grau de fibrose (METAVIR¹⁹), foi observada maior frequência do alelo *DRB1*15* no grupo com menor dano hepático (OR = 2,48; IC 95% = 1,09 – 5,64; $P = 0,0315$; Tabela 3).

Tabela 3. Frequências alélicas do *HLA-DRB1* em pacientes com hepatite C crônica, distribuídas por grau de fibrose (METAVIR¹⁹).

<i>HLA-DRB1</i>	F0 – F2	F3 – F4	Análise Estatística	
Alelo	2n = 150	2n = 154	OR (IC 95%)	P-value
*01	6 (4,0)	12 (7,8)	0,49 (0,18 – 1,35)	0,2243
*03	17 (11,3)	23 (14,9)	0,73 (0,37 – 1,43)	0,3984
*04	28 (18,7)	25 (16,2)	1,18 (0,65 – 2,14)	0,6508
*07	14 (9,3)	25 (16,2)	0,53 (0,27 – 1,07)	0,0865
*08	6 (4,0)	7 (4,7)	0,88 (0,29 – 2,67)	1,0000
*09	2 (1,3)	0 (0)	5,20 (0,25 – 109,34)	0,2426
*10	4 (2,7)	0 (0)	9,49 (0,51 – 177,97)	0,0581
*11	18 (12,0)	15 (9,7)	1,26 (0,61 – 2,61)	0,5827
*12	4 (2,7)	3 (2,0)	1,38 (0,30 – 6,27)	0,7203
*13	19 (12,7)	25 (16,2)	0,75 (0,39 – 1,43)	0,4174
*14	9 (6,0)	8 (5,2)	1,17 (0,44 – 3,11)	0,8071
15	20 (13,3)	9 (5,8)	2,48 (1,09 – 5,64)	0,0315
*16	3 (2,0)	2 (1,3)	1,55 (0,26 – 9,42)	0,6813

Teste exato de Fisher; F0 – F2: sem fibrose ou fibrose leve; F3 – F4: fibrose avançada ou cirrose; OR: razão de chance; IC 95%: intervalo de confiança de 95%; *considera-se $P \leq 0,05$ relação estatisticamente significativa.

Os casos também foram categorizados segundo o comprometimento hepático¹⁹ e foi observado que os alelos *HLA-DRB1* não estavam associados a ocorrência de MR, independentemente do grau de fibrose (dados não demonstrados).

DISCUSSÃO

Estudos mostram que o comprometimento reumatológico é a manifestação extra-hepática mais frequente na infecção crônica pelo VHC, podendo atingir mais de 70% dos pacientes^{9,20-22} assim como observado em nossos resultados, em que 73% dos casos apresentaram queixas reumatológicas não atribuídas a outras causas. Não houve correlação com etnia, genótipo viral e grau de fibrose, porém houve com a idade ($P = 0,0359$) e gênero ($P = 0,0249$), diferentemente dos resultados apresentados por Gohar et al que não constataram essas relações no estudo²³. As mulheres parecem ser mais suscetíveis ao desenvolvimento destas

manifestações^{9,24}, independentemente de outras condições clínicas concomitantes²⁵. A associação observada entre MR e o grupo de mulheres deste estudo foram sustentadas pela análise de regressão logística.

Estudos relatam que os alelos *HLA-DRB1**04, *01, *09, *10; *14 e *15^{16,17, 26-30} aumentam o risco para o desenvolvimento das doenças difusas do tecido conjuntivo (MR-DDTC) e os resultados verificados em nossa casuística sugerem uma distinção entre MR-VHC daquelas ligadas MR-DDTC, corroborando a hipótese de que as duas vias fisiopatológicas sejam distintas.

O alelo *DRB1**08 parece conferir proteção contra MR na hepatite C crônica (OR = 0,30; IC 95% = 0,08 – 0,91; *P* = 0,0483). Apesar de alguns alelos apresentarem uma associação protetiva ao desenvolvimento de MR-DDTC (*DRB1**07:01 e *DRB1**13:01^{16,27}), não foram encontrados estudos publicados relatando efeito protetor de alelos *HLA-DRB1* contra MR-VHC.

Adicionalmente, nós observamos que o alelo *HLA-DRB1**15 (OR = 2,48; IC 95% = 1,09-5,64; *P* = 0,0315*) pode ter um efeito protetor contra o dano hepático. Marangon et al também observaram associação de alelo *HLA-DRB1* contra o dano hepático, porém com o alelo *DRB1**11^{31,32}.

Neste contexto, os resultados do presente estudo sugerem que as vias fisiopatológicas das MR-VHC e MR-DDTC sejam distintas, uma vez que não foi observada associação de suscetibilidade entre os alelos *HLA-DRB1* e as manifestações reumatológicas. Ainda, o alelo *HLA-DRB1**15 parece exercer efeito protetor contra o dano hepático.

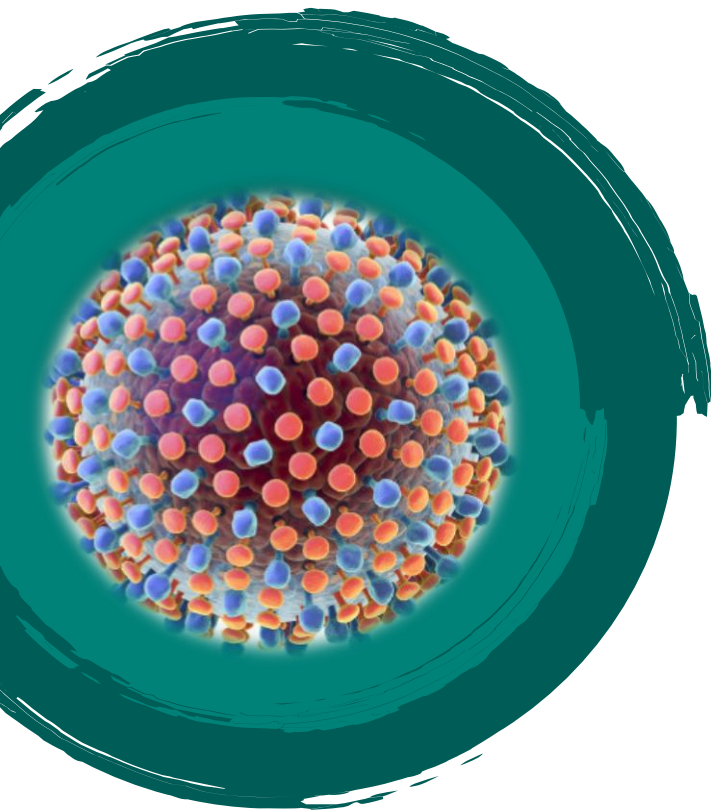
REFERÊNCIAS

1. **Preciado MV**, Valva P, Ecobar-Gutierrez A, Rahal P, Ruiz-Tovar K, Yamasaki L, et al. Hepatitis C virus molecular evolution: transmission, disease progression and antiviral therapy. *World J Gastroenterol* 2014; **20(43)**: 15992–16013. [PMID: 25473152 DOI: 10.3748/wjg.v20.i43.15992]
2. **Messina JP**, Humphreys I, Flaxman A, Brown A, Cooke GS, Pybus OG, et al. Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*. 2015; **61(1)**:77-87. [PMID: 25069599 DOI: 10.1002/hep.27259]

3. Global Hepatitis Report 2017. Geneva: World Health Organization; 2017. Disponível em: <https://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017/en/>
4. **Gumber SC**, Chopra S. Hepatitis C: a multifaceted disease. Review of extrahepatic manifestations. *Ann Intern Med* 1995; **123**: 615-20. [PMID: 7677303 DOI: 10.7326/0003-4819-123-8-199510150-00008]
5. **Ferri C**, Ramos-Casals M, Zignego AL, Arcaini L, Roccatello D, Antonelli A, et al. International diagnostic guidelines for patients with HCV-related extrahepatic manifestations. A multidisciplinary expert statement. *Autoimmunity Reviews* 2016; **15**: 1145-60. [PMID: 27640316 DOI: 10.1016/j.autrev.2016.09.006]
6. **Rocha OM**, Batista AAP, Medolago N, Silva GF. Manifestações reumatológicas da hepatite C. *JBM* 2010; **98(2)**: 37-42.
7. **Bombardieri M**, Alessandri C, Labbadia G, Iannuccelli C, Carlucci F, Riccieri V, et al. Role of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in discriminating patients with rheumatoid arthritis from patients with chronic hepatitis C infection associated polyarticular involvement. *Arthritis Res Ther* 2004; **6**: 137-41. [PMID: 15059277 DOI: 10.1186/ar1041]
8. **Sayiner ZA**, Haque U, Malik MU, Gurakar A. Hepatitis C virus infection and its rheumatologic implications. *Gastroenterology & Hepatology* 2014; **10**: 287-93. [PMID: 24987312]
9. **Cacoub P**, Poynard T, Ghillani P, Charlott F, Olivi M, Piette JC, Opolon P. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C. MULTIVIRC Group. Multidepartment Virus C. *Arthritis & Rheumatism* 1999; **42(10)**: 2204–12. [PMID: 10524695 DOI: 10.1002/1529-0131(199910)42:10<2204::AID-ANR24>3.0.CO;2-D]
10. **Buskila D**. Hepatitis C – Associated rheumatic disorders. *Rheum Dis Clin N Am* 2009; **35**: 111–23. [PMID: 19481000 DOI: 10.1016/j.rdc.2009.03.005].
11. **Ali A**, Zein NN. Hepatitis C infection: a systemic disease with extrahepatic manifestations. *Cleveland Clinic Journal of Medicine* 2005; **72(11)**: 1005-19. [PMID: 16315439]
12. **Cacoub P**, Renou C, Kerr G, Hüe S, Rosenthal E, Cohen P, Kaplanski G, Charlotte F, Thibault V, Ghillani P, Piette JC, Caillat-Zucman S. Influence of HLA–DR phenotype on the risk of hepatitis C virus–associated mixed cryoglobulinemia. *Arthritis & Rheumatism* 2001; **44(9)**: 2118–24. [PMID: 11592376 DOI: 10.1002/1529-0131(200109)44:9<2118::AID-ART364>3.0.CO;2-X]
13. **Czaja AJ**, Carpenter HA, Santrach, PJ. Immunologic features and HLA associations in chronic viral hepatitis. *Gastroenterology* 1995; **108**: 157-64. [PMID: 7806037]

14. **Giannitti C**, Morozzi G, D'Alfonso S, Bellisai F, Galeazzi M. Associazione tra genotipo virale, HLA e manifestazioni extra-epatiche dell'epatite C. *Reumatismo* 2008; **60(3)**:192-8. [PMID: 18854880 DOI: 10.4081/reumatismo.2008.192]
15. **Louzada-Júnior P**, Freitas MVC, Oliveira RDR, Deghaide NHS, Conde RA, M.B. Bertolo, et al. A majority of brazilian patients with rheumatoid arthritis HLA-DRB1 alleles carry both the HLA-DRB1 shared epitope and anti-citrullinated peptide antibodies Brazilian Braz J Med Biol Res. 2008; **41(6)**: 493-9. [PMID: 18560674 DOI: 10.1590/s0100-879x2008005000021]
16. **Bodis G**, Toth V, Schwarting A. Role of Human Leukocyte Antigens (HLA) in Autoimmune Diseases. *Rheumatol Ther* 2018; **5(1)**:5-20. [PMID: 29516402 DOI: 10.1007/s40744-018-0100-z]
17. **Dieudé P**. Rheumatic diseases: environment and genetics. *Joint Bone Spine* 2009; **76(6)**:602-7. [PMID:19926510 DOI: 10.1016/j.jbspin.2009.10.002]
18. **Fuller R**. Critério de classificação da artrite reumatoide ACR-EULAR 2010. *Rev Bras Reumatol*. 2010; 50 (5):481-6.
19. **Bedossa P**, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology* 1996; **24(2)**: 289-93. [PMID: 8690394 DOI: 10.1002/hep.510240201]
20. **Jadali Z**, Alavian SM. Autoimmune diseases co-existing with hepatitis C vírus infection. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2010; **9(4)**:191-206. [PMID: 21131699 DOI: 09.04/ijaa.191206]
21. **Aydeniz A**, Namiduru M, Karaoglan I, Altindag O, Yagiz E, Gursoy S. Rheumatic manifestations of hepatitis B and C and their association with viral load and fibrosis of the liver. *Rheumatol Int* 2010; **30(4)**:515-7. [PMID: 19536545 DOI:10.1007/s00296-009-1010-8]
22. **Vassilopoulos D**, Manolakopoulos S. Rheumatic manifestations of hepatitis. *Curr Opin Rheumatol* 2010; **22(1)**:91-6. [PMID: 19864952 DOI: 10.1097/BOR.0b013e328333ba5d]
23. **Gohar NAE**, Abdalla MA, Mehaseb MK, Saleb WAE. Impact of hepatitis C virus infection on disease activity, functional status and ultrasonography findings in Egyptian rheumatoid arthritis patients. *The Egyptian Rheumatologist* 2018; **40(2)**: 79-83. [DOI: 10.1016/j.ejr.2017.07.002]
24. **Mohammed RHA**, , ElMakhzangy HI, Gamal A, Mekky F, El Kassas M, Mohammed N, et al. Prevalence of rheumatologic manifestations of chronic hepatitis C virus infection among Egyptians. *Clin Rheumatol* 2010; **29(12)**: 1373-80. [PMID: 20411290 DOI: 10.1007/s10067-010-1463-x]

25. **Talsania M**, Scofield RH. Menopause and Rheumatic Disease. *Rheum Dis Clin N Am* 2017; **43**: 287–302. [PMID: 28390570 DOI: 10.1016/j.rdc.2016.12.011]
26. **Mourad J**, Monem F. Associação do alelo HLA-DRB1 com suscetibilidade a artrite reumatoide e gravidade da doença na Síria. *Rev Bras Reumatol* 2013; **53(1)**:47–56. [DOI: 10.1590/S0482-50042013000100005]
27. **Paradowska-Gorycka A**, Stypińska B, Olesińska M, Felis-Giemza A, Mańczak M, Czuszyńska Z, et al. Association of HLA-DRB1 alleles with susceptibility to mixed connective tissue disease in Polish patients. *HLA* 2016; **87(1)**:13-8. [PMID: 26818120 DOI: 10.1111/tan.12698]
28. **Hassan AB**, Nikitina-Zake L, Padyukov L, Karlsson G, Gupta M, Lundberg IE, Sanjeevi CB. MICA4/HLA-DRB1*04/TNF1 haplotype is associated with mixed connective tissue disease in Swedish patients. *Hum Immunol.* 2003 Feb;64(2):290-6. [PMID: 12559632 DOI: 10.1016/s0198-8859(02)00776-0]
29. **Flåm ST**, Gunnarsson R, Garen T; Norwegian MCTD Study Group, Lie BA, Molberg Ø. The HLA profiles of mixed connective tissue disease differ distinctly from the profiles of clinically related connective tissue diseases. *Rheumatology (Oxford)* 2015; **54(3)**:528-35. [PMID: 25187641 DOI: 10.1093/rheumatology/keu310]
30. **Weyand CM**, Goronzy JJ. Association of MHC and rheumatoid arthritis. HLA polymorphisms in phenotypic variants of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.* 2000; **2(3)**:212-6. [PMID: 11094432; DOI: 10.1186/ar90]
31. **Marangon AV**, Silva GF, Moraes CFV, Grotto RMT, Pardini MIMC, Pauli DS, et al. Protective effect of HLA-DRB1*11 and predisposition of HLA-C*04 in the development of severe liver damage in brazilian patients with chronic hepatitis C virus infection. *Scandinavian Journal of Immunology* 2012; **76(4)** 440-7. [doi: 10.1111/j.1365-3083.2012.02755.x]
32. **Zavaglia C**, Martinetti M, Silini E, Bottelli R, Daielli C, Asti M, Airoidi A, Salvaneschi L, Mondelli MU, Ideo G. Association between HLA class II alleles and protection from or susceptibility to chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1998; **28(1)**:1-7. [PMID: 9537846 DOI: 10.1016/s0168-8278(98)80195-5].



HPA-3 polymorphism as a risk factor for manifestations in hepatitis C

[ARTIGO 3]

Status: publicado no periódico Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine



[ARTIGO 3]

Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical
 Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine
 Vol.:53:e20190210: 2020
 doi: 10.1590/0037-8682-0210-2019



Short Communication

Human platelet antigen-3 polymorphism as a risk factor for rheumatological manifestations in hepatitis C

Natália Bronzatto Medolago^[1], Adriana Camargo Ferrasi^[1], Oswaldo Melo da Rocha^[1],
 Maria Inês de Moura Campos Pardini^[1], Rejane Maria Tommasini Grotto^[2],
 Aline Faria Galvani^[1] and Giovanni Faria Silva^[1]

[1]. Universidade Estadual Paulista, Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Botucatu, Botucatu, SP, Brasil.

[2]. Universidade Estadual Paulista, Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, SP, Brasil.

Abstract

Introduction: Hepatitis C virus (HCV) infection is involved in the pathogenesis of autoimmune and rheumatic disorders. Although the human platelet antigens (HPA) polymorphism are associated with HCV persistence, they have not been investigated in rheumatological manifestations (RM). This study focused on verifying associations between allele and genotype HPA and RM in patients with chronic hepatitis C. **Methods:** Patients (159) with chronic hepatitis C of both genders were analyzed. **Results:** Women showed association between HPA-3 polymorphisms and RM. **Conclusions:** An unprecedented strong association between rheumatological manifestations and HPA-3 polymorphism, possibly predisposing women to complications during the disease course, was observed.

Keywords: Hepatitis C. Human platelet antigens. Polymorphism. Rheumatological manifestations.

Chronic hepatitis C virus (HCV) infection is a worldwide public health problem with a global prevalence of 2-3%. In addition to being a frequent cause of chronic liver diseases such as hepatitis, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma, it is also involved in the pathogenesis of various autoimmune and rheumatic disorders such as arthritis, vasculitis, sicca syndrome, porphyria cutanea tarda, lichen planus, nephropathies, thyroid diseases, lung fibrosis, among others^{1,2,3}. Even though the rheumatic disorders are common among the extrahepatic manifestations, the mechanisms involved in the onset of these symptoms as well as the associated genetic factors are yet to be understood completely.

Host genetic factors such as the human platelet antigens (HPA) polymorphism are also known to be associated with the infection and persistence of HCV^{4,5}. However, there is no evidence of its relation to rheumatological manifestations.

HPAs result from the polymorphisms in the genes encoding surface glycoproteins of platelets, endothelial cells, and fibroblasts^{6,7}, and are commonly involved in rheumatological

diseases. Considering that the fibroblasts express HPA, these proteins could be involved in rheumatological manifestations. Thus, the aim of this study was to verify associations between allele and genotype HPA-1, -3, and -5 polymorphisms and rheumatological manifestations in patients with chronic hepatitis C.

A total of 159 individuals aged between 18 and 80 years, of both genders and affected by chronic hepatitis C, assisted at the Viral Hepatitis Outpatient Clinic of Botucatu Medical School, Unesp, Brazil, were included in this study. We only considered detectable HCV-RNA cases, with identification of HCV genotype, no previous hepatitis C treatment (*naïve* patients), with known fibrosis stage or clinical diagnosis of cirrhosis by image. Patients with HBV/HIV co-infection, chronic renal insufficiency, liver or renal transplantation, liver diseases, and other diffuse connective tissue diseases, including rheumatoid arthritis, according to Rheumatoid Arthritis Classification Criteria (ACR-EULAR 2010), were excluded⁸.

Clinical symptoms, such as presence of paresthesia sensations, Raynaud's phenomenon, cutaneous alterations, subcutaneous nodule, myalgia, muscle weakness, non-mechanical low back pain, arthralgia, arthritis, and other rheumatological manifestations were considered as rheumatological manifestations in this study. Laboratorial parameters evaluated were rheumatoid factor (qualitative and semi-quantitative) and anti-CCP (semi-quantitative) using Reumatex kit (Labtest Diagnostica S/A, Lagoa Santa, MG,

Corresponding author: Dra. Adriana Camargo Ferrasi.

e-mail: adriana.ferrasi@unesp.br

● 0000-0001-9200-5391

Received 28 April 2019

Accepted 3 October 2019

Medolago NB et al. - Rheumatic manifestations in hepatitis C

Brazil) and QUANTA Lite™ CCP3.1 kit (INOVA Diagnostic Inc., San Diego, CA, USA), respectively, according to the manufacturer's instructions.

Deoxyribonucleic acid (DNA) was isolated from the total blood using the Wizard® Minipreps DNA Purification System and used to genotype HPA-1 and HPA-3 with polymerase chain reaction-sequence-specific primers (PCR-SSP), as described by Klüter et al⁹. HPA-5 was genotyped using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP), as described by Kalb et al¹⁰.

The association analysis between the categorical variables was performed using the χ^2 or Fisher's exact test. Student's t-test was used for comparing the mean ages. Logistic regression was used to categorize the risk of the association among the groups. Odds ratio values with 95% confidence interval were also calculated. $P \leq 0.05$ was considered statistically significant.

This study was approved by the Ethics Committee on Research of Sao Paulo State University (Protocol 3727/2010), and conforms to the provisions of Helsinki Declaration of 1964, as revised in 1975, 1983, 1989, 1996, and 2000. All the participants of this study signed the individually informed consent forms.

Out of 159 individuals, 87 (54.7%) were men and 72 (45.3%) were women. The median and mean ages were 49 years (24 to 76 years) and 48.7 years, respectively.

Rheumatological manifestations were present in 72.3% of the patients. Table 1 shows the demographic and clinical characteristics related to rheumatic involvement. An association between female gender and development of rheumatological manifestations ($P = 0.0201$) was observed. This association was maintained when the data was subjected to multivariate logistic regression analysis ($P = 0.0381$). It is well-known that the rheumatic diseases are more prevalent in women, regardless of other concomitant clinical conditions¹¹. The correlation between rheumatic manifestation and female gender was already observed in a research conducted with Egyptian population affected by chronic hepatitis C¹². In addition,

Cacoub et al¹³ showed that more than 70% of the HCV-infected patients showed extrahepatic manifestations involving primarily joints, muscles, and skin, which as per our findings, were also associated to female gender.

Genotype and allele frequencies of HPA-1, -3, and -5 were distributed according to the presence or absence of rheumatological manifestations. There was no significant association observed among the patients. However, upon considering the gender (Tables 2 and 3), the females showed a significant association between rheumatological manifestation and allele HPA-3a (OR = 3.83, 95% CI = 1.60-9.22, and $P = 0.0044$) and HPA-3a3a (OR = 6.98, 95% CI = 1.42-34.31, and $P = 0.0125$). Moreover, a risk was also observed for HPA-1a1b (OR = 7.67, 95% CI = 0.93-63.02, and $P = 0.0482$). On the contrary, HPA-3b3b was protective (OR = 0.21, 95% CI = 0.47-0.93, and $P = 0.0496$) for rheumatological manifestations.

In this context, it is noteworthy that HPA-1 and HPA-3 are located in the same glycoprotein complex (GPIIb-IIIa) expressed in both endothelial cells and fibroblasts⁷, which are the cells commonly involved in rheumatological diseases. However, additional studies involving other populations are necessary to confirm these data and to improve the understanding of the mechanisms involved in rheumatic manifestations in chronic HCV infection. Similar to the well-established association of human leukocyte antigens (HLA) and diseases, studies involving HPA may also contribute towards the identification of clinically important molecular markers, thereby aiding in understanding the pathophysiological mechanisms involved in the diseases.

Our study is the first report of a strong association between rheumatological manifestations and HPA-3 polymorphism, which may explain the possible predisposition of women to complications during the course of chronic hepatitis C.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank all the patients who participated in the study and all the employees of the institution, who in some way, collaborated with the execution of the research.

TABLE 1: Clinical and demographic characteristics of the population with chronic hepatitis C, distributed by presence or absence of rheumatological manifestations.

Variables	Presence of rheumatological manifestations n = 115 (%)	Absence of rheumatological manifestations n = 44 (%)	P-value
Age (years), mean	49.6 ± 10.0	46.3 ± 10.3	0.0672*
Sex			
Male	58 (64.4)	31 (35.6)	0.0201
Female	59 (81.9)	13 (18.1)	
Ethnicity			
White	102 (72.3)	39 (27.7)	1.0000
Non-white	13 (72.2)	5 (27.8)	
HCV Genotype			
1	80 (73.4)	29 (26.6)	0.7042
Not 1	35 (70.0)	15 (30.0)	
Fibrosis*			
Absent (F0)	3 (75.0)	1 (25.0)	0.0519
Moderate (F1, F2)	48 (64.0)	27 (36.0)	
Advanced (F3)	20 (69.0)	9 (31.0)	
Cirrhosis	44 (88.3)	7 (13.7)	

Fisher's exact test or Chi-square test (χ^2); $P \leq 0.05$ is considered a statistically significant relation; *T-test; *Histological grouping.

TABLE 2: Genotype and allele frequencies of HPA-1, -3, and -5 in women with chronic hepatitis C, distributed by the presence and absence of rheumatological manifestations.

HPA	Presence of rheumatological manifestations	Absence of rheumatological manifestations	Statistical Analysis	
			OR (CI 95%)	P-value
Alleles	2n = 118 (%)	2n = 26 (%)		
1a	93 (80.2)	23 (19.8)	0.49 (0.13 – 1.75)	0.4111
1b	25 (89.3)	3 (10.7)	2.06 (0.57 – 7.43)	
3a	87 (88.8)	11 (11.2)	3.83 (1.60 – 9.22)	
3b	31 (67.4)	15 (32.6)	0.26 (0.11 – 0.63)	0.0044
5a	99 (79.8)	25 (20.2)	0.21 (0.03 – 1.63)	0.1257
5b	19 (95.0)	1 (5.0)	4.80 (0.61 – 37.60)	
Genotypes	n = 58 (%)	n = 13 (%)	OR (CI 95%)	P-value
1a/1a	35 (76.0)	11 (24.0)	0.27 (0.05 – 1.31)	0.1155
1a/1b	23 (95.8)	1 (4.2)	7.67 (0.93 – 63.02)	0.0482
1b/1b	1 (50.0)	1 (50.0)	0.21 (0.01 – 3.55)	0.3306
3a/3a	33 (94.3)	2 (5.7)	6.98 (1.42 – 34.31)	0.0125
3a/3b	21 (75.0)	7 (25.0)	0.47 (0.14 – 1.60)	0.3460
3b/3b	5 (55.6)	4 (44.4)	0.21 (0.47 – 0.93)	0.0496
5a/5a	42 (77.8)	12 (22.2)	0.21 (0.03 – 1.71)	0.1628
5a/5b	15 (93.8)	1 (6.2)	4.09 (0.49 – 34.20)	0.2723
5b/5b	2 (100.0)	0 (0)	1.17 (0.05 – 25.91)	1.0000

Fisher's exact test; OR: odds ratio; CI: confidence interval; $P \leq 0.05$ is considered a statistically significant relation.

TABLE 3: Genotype and allele frequencies of HPA-1, -3, and -5 in men with chronic hepatitis C, distributed by the presence and absence of rheumatological manifestations.

HPA	Presence of rheumatological manifestations	Absence of rheumatological manifestations	Statistical Analysis	
			OR (CI 95%)	P-value
Alleles	2n = 112 (%)	2n = 62 (%)		
1a	97 (86.4)	49 (33.6)	1.72 (0.76 – 3.90)	0.2030
1b	15 (53.6)	13 (46.4)	0.58 (0.26 – 1.32)	
3a	78 (82.8)	45 (37.2)	0.80 (0.40 – 1.58)	
3b	36 (67.9)	17 (32.1)	1.25 (0.63 – 2.50)	0.6067
5a	99 (64.7)	54 (35.3)	1.13 (0.44 – 2.89)	0.8115
5b	13 (61.9)	8 (38.1)	0.89 (0.35 – 2.27)	
Genotypes	n = 56 (%)	n = 31 (%)	OR (CI 95%)	P-value
1a/1a	44 (89.8)	19 (30.2)	2.32 (0.88 – 6.08)	0.1318
1a/1b	9 (45.0)	11 (55.0)	0.35 (0.13 – 0.97)	0.0612
1b/1b	3 (75.0)	1 (25.0)	1.70 (0.17 – 17.07)	1.0000
3a/3a	26 (83.4)	15 (36.6)	0.82 (0.38 – 2.23)	1.0000
3a/3b	24 (61.5)	15 (38.5)	0.80 (0.33 – 1.93)	0.6577
3b/3b	6 (85.7)	1 (14.3)	3.60 (0.41 – 31.39)	0.4135
5a/5a	44 (65.7)	23 (34.3)	1.28 (0.46 – 3.56)	0.7908
5a/5b	11 (57.9)	8 (42.1)	0.70 (0.25 – 1.99)	0.5907
5b/5b	1 (100.0)	0 (0)	1.70 (0.07 – 43.09)	1.0000

Fisher's exact test; OR: odds ratio; CI: confidence interval; $P \leq 0.05$ is considered a statistically significant relation.

Medolago NB et al. - Rheumatic manifestations in hepatitis C

AUTHORS' CONTRIBUTION

NBM: designed the study, performed procedures, acquisition/analysis of data and writing the manuscript; **ACF:** designed the study, performed procedures, acquisition/analysis of data and writing the manuscript; **OMR:** designed the study, performed procedures, acquisition and analysis of data; **MIMCP:** contributed to design the study, performed procedures and acquisition of data; **RMTG:** contributed to design the study, performed procedures and acquisition of data; **AFG:** performed procedures and acquisition of data; **GFS:** drafted study concept and design, critical revision of the manuscript and study supervision.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare no conflicts of interest with respect to the authorship and publication of this article.

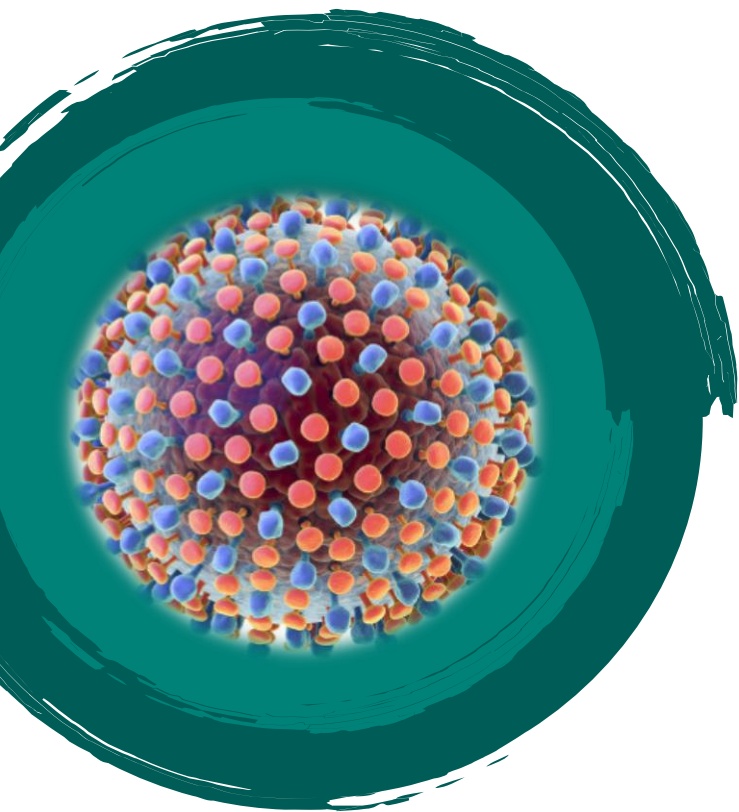
FINANCIAL SUPPORT

This work was supported by the grant from São Paulo Research Foundation - FAPESP (grant number 2011/22049-6).

REFERENCES

- Antonelli A, Ferri C, Galeazzi M, Giannitti C, Manno D, Mieli-Vergani G, et al. HCV infection: pathogenesis, clinical manifestations and therapy. *Clin Exp Rheumatol*. 2008; 26(1 Suppl 48):39-47.
- Ferri C, Ramos-Casals M, Zignego AL, Arcaini L, Roccatello D, Antonelli A, et al. International diagnostic guidelines for patients with HCV-related extrahepatic manifestations. A multidisciplinary expert statement. *Autoimmun Rev*. 2016;15(12):1145-60.
- Palazzi C, D'Angelo S, Olivieri I. Hepatitis C virus-related arthritis. *Autoimmun Rev*. 2008;8(1):48-51.
- Bierling P, Pignon JM, Kuentz M, Mitjavila MT, Fromont P, Barbu V, et al. Thrombocytopenia after bone marrow transplantation caused by a recipient origin Br(a) allo-antibody: presence of mixed chimerism 3 years after the graft without hematologic relapse. *Blood*. 1994;83(1):274-9.
- Verdichio-Moraes CF, Toralles-Pereira C, Grotto RMT, Silva GF, Pardini MIMC. Allelic frequencies of HPA-1 to 5 human platelet antigens in patients infected with hepatitis C virus. *J Med Virol*. 2009;81(4):757-9.
- Curtis BR, McFarland JG. Human platelet antigens—2013. *Vox Sang* 2014;106:93-102
- Giltay JC, Brinkman HJ, von dem Borne AE, van Mourik JA. Expression of the alloantigen Zwa (or P1A1) on human vascular smooth muscle cells and foreskin fibroblasts: a study on normal individuals and a patient with Glanzmann's thrombasthenia. *Blood*. 1989;74(3):965-70.
- Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO 3rd. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(9):1580-8.
- Klüter H, Fehlau K, Panzer S. Rapid typing for human platelet antigen systems -1, -2, -3 and -5 by PCR amplification with sequence-specific primers. *Vox Sang*. 1996;71:121-5.
- Kalb R, Santoso S, Unkelbach K, Kiefel V, Mueller-Eckhardt C. Localization of the Br polymorphism on a 144bp exon of the GPIa gene and its application for platelet DNA typing. *Tromb Haemost*. 1994;71(5):651-4.
- Talsania M, Scofield RH. Menopause and Rheumatic Disease. *Rheum Dis Clin North Am*. 2017;43(2):287-302.
- Mohammed RHA, ElMakhzangy HI, Gamal A, Mekky F, El Kassas M, Mohammed N, et al. Prevalence of rheumatologic manifestations of chronic hepatitis C virus infection among Egyptians. *Clin Rheumatol*. 2010;29(12):1373-80.
- Cacoub P, Poynard T, Ghillani P, Charlott F, Olivi M, Piette JC, et al. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C. MULTIVIRC Group. *Multidepartment Virus C. Arthritis Rheum*. 1999;42(10):2204-12.

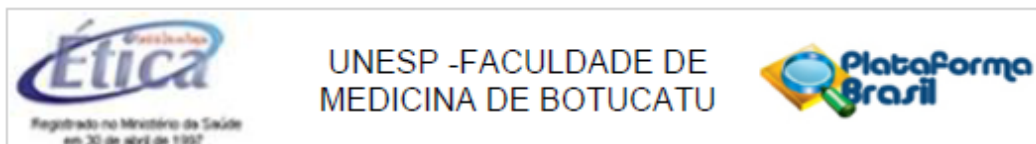




ANEXO I

[Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa]





PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Análise de associações de polimorfismos HLA, HPA, indicadores de autoimunidade e manifestações reumatológicas na Hepatite C.

Pesquisador: Natália Bronzatto Medolago

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 53238316.0.0000.5411

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina de Botucatu/UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.682.296

Apresentação do Projeto:

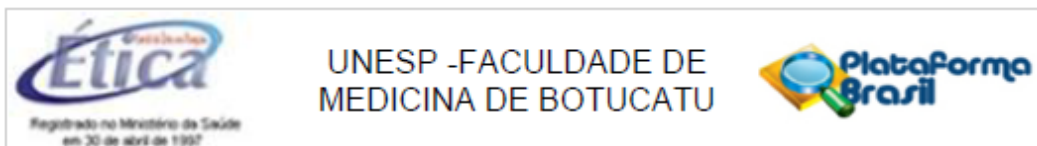
Informo que o Projeto de Pesquisa "Manifestações reumatológicas na Hepatite C e análise de polimorfismo HLA, HPA e marcadores de autoimunidade", foi aprovado por este colegiado "em papeis" em 08/11/2010, de autoria de Natália Bronzatto Medolago, orientada pelo Prof. Adjunto Giovanni Faria Silva, com objetivo de "Dissertação de Mestrado".

Para a Defesa do Mestrado propriamente dito, o título da pesquisa foi alterado para "Análise de associações de polimorfismos HPA, indicadores de autoimunidade e manifestações reumatológicas na hepatite C".

Conforme esclarecimentos do orientador para a Defesa do Mestrado foi realizada uma etapa do estudo (HPA, indicadores de autoimunidade e manifestações reumatológicas), ficando a segunda etapa do estudo (HLA, HPA, indicadores de autoimunidade e manifestações reumatológicas) para o Doutorado.

Diante desses esclarecimentos:

Endereço: Chácara Butignolli, s/n
Bairro: Rubião Junior CEP: 18.618-970
UF: SP Município: BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1608 E-mail: capellup@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 1.682.296

O Projeto foi cadastrado no Sistema da Plataforma como "Projeto Anterior ao Sistema", tendo sido expedido novo parecer sob nº 1.415.544, recebendo o (Protocolo CAAE 53238316.0.0000.5411).

Nesse Momento, os autores incluem Emenda ao Projeto original para dar continuidade na pesquisa com objetivo de Tese de Doutorado de Natalia Bronzatto Medolago, orientada pelo Prof. Adjunto Giovanni Faria Silva, cujo título denomina-se: "Análise de associações de polimorfismos HLA, HPA, indicadores de autoimunidade e manifestações reumatológicas na Hepatite C".

Para esta proposta será realizado um estudo retrospectivo com dados dos 159 participantes portadores de Hepatite C Crônica, que foram selecionados anteriormente, conforme critérios de inclusão e exclusão, no Ambulatório de Hepatites Virais da Disciplina de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu.

Serão utilizados dados colhidos nas avaliações realizadas anteriormente no projeto de mestrado (avaliações do histórico pessoal, avaliação clínica mediante consulta com o doente-manifestações clínicas relacionadas à Hepatite C, manifestações extra-hepáticas e exame físico reumatológico (dados em prontuário), e resultados das tipagens HLA/HPA, valores de fator reumatóide e anti-ccp).

O Critério de Inclusão do Doutorado: permanece inalterado.

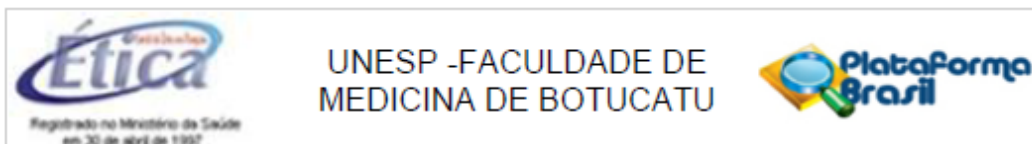
Critério de Exclusão do Doutorado:

1. Apresentar coinfeção VHB ou HIV;
2. Ter hepatite auto-imune, hemocromatose, doença de Wilson, cirrose biliar primária, colangite esclerosante primária.
3. Ter insuficiência renal crônica;
4. Ter realizado transplante hepático ou renal;
5. Ter doenças difusas do tecido conjuntivo, inclusive AR, conforme Critério de Classificação da Artrite Reumatóide ACR – EULAR 2010.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário do Projeto de Doutorado:

Endereço: Chácara Butignolli, s/n	CEP: 18.618-970
Bairro: Rubião Junior	
UF: SP	Município: BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1608	E-mail: capellup@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 1.682.296

Verificar possíveis associações de indicadores de autoimunidade e polimorfismos do HLA e HPA com manifestações reumatológicas e parâmetros clínicos em pacientes com Hepatite C crônica.

Objetivo secundário do Projeto de Doutorado:

1. Verificar a frequência dos polimorfismos HLA e manifestações reumatológicas;
2. Verificar a associação de polimorfismos HLA com indicadores de autoimunidade;
3. Verificar a associação de manifestações reumatológicas, polimorfismos HLA e HPA e resposta ao tratamento da Hepatite C.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos do Projeto de Doutorado: Não se aplica, haja vista ser compilação de Dados do Projeto anterior (Mestrado).

Benefícios do Projeto de Doutorado: A avaliação destas associações com a infecção pelo vírus C pode sugerir um prognóstico de manifestações reumatológicas no curso da Hepatite C e possíveis condutas terapêuticas (Permanece inalterado para o Doutorado).

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Na proposta atual os pesquisadores analisarão de forma retrospectiva os dados coletados de 159 participantes de pesquisa do Projeto mestrado. Sendo: "HPA, indicadores de autoimunidade e manifestações reumatológicas) associando-os com o HLA que também já foi coletado e processado, mas não analisado estatisticamente." Desta forma os autores completarão o estudo, propondo o Doutorado de Natália Bronzatto Medolago, orientada pelo Prof. Adjunto Giovanni Faria Silva.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

1. Para esta proposta, os autores solicitam Dispensa de Nova aplicação de TCLE, uma vez que o mesmo foi aplicado por ocasião da coleta inicial (Projeto de Mestrado) e neste momento somente serão utilizados os dados já coletados. Sou de opinião favorável a solicitação;
2. Apresentou Nova versão de Folha de Rosto, constando o título da pesquisa proposto para o Doutorado;
3. Apresentou o Projeto de Pesquisa devidamente Emendado;
4. Apresentou Anuência Institucional, expedida pelo Escritório de Apoio à Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu;

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

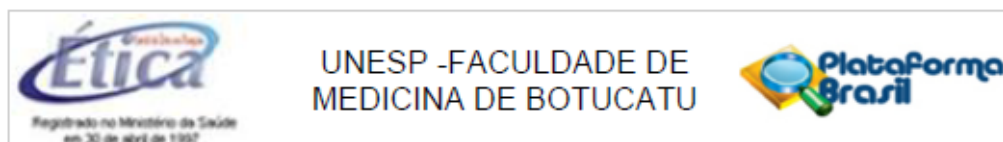
UF: SP

Telefone: (14)3880-1608

CEP: 18.618-970

Município: BOTUCATU

E-mail: capellup@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 1.682.296

5. Apresentou Relatório Final de Atividade do projeto de Mestrado, o qual cumpre as normas estabelecidas por este CEP.

6. Apresentou todo o cadastro da Plataforma Brasil, emendado incluindo todas as etapas do Doutorado, com cronograma que pretende-se iniciar em 17/10/2016, e previsão para finalização em novembro de 2017.

Recomendações:

Solicita-se apresentação do "Relatório Final de Atividades" tão logo o projeto de Doutorado seja concluído. O envio dessa documentação se faz necessário ser enviado pelo Sistema Plataforma Brasil através de "Notificação".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sugiro aprovação, sem necessidade de envio à CONEP.

Considerações Finais a critério do CEP:

O CEP em reunião extraordinária de 17/08/2016, APROVA, o Projeto de Pesquisa "Análise de associações de polimorfismos HLA, HPA, indicadores de autoimunidade e manifestações reumatológicas na Hepatite C", que será desenvolvido com objetivo de Tese de Doutorado de Natália Bronzatto Medolago, orientada pelo Prof. Adjunto Giovanni Faria Silva.

No entanto, solicitamos aos pesquisadores que ao final da execução do projeto proposto, seja enviado o respectivo "Relatório Final de Atividades" via Plataforma Brasil na forma de Notificação.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_760336 E1.pdf	09/08/2016 16:45:48		Aceito
Outros	Autorizacao_institucional.pdf	09/08/2016 16:41:47	Natália Bronzatto Medolago	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	09/08/2016 16:38:51	Natália Bronzatto Medolago	Aceito
Parecer Anterior	PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_1415544_anterior_a_PB.pdf	28/07/2016 10:01:28	Natália Bronzatto Medolago	Aceito
Cronograma	6_Cronograma_de_atividades.doc	28/07/2016 09:55:12	Natália Bronzatto Medolago	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	5_Solicitacao_dispensa_do_TCLE.doc	28/07/2016 09:54:55	Natália Bronzatto Medolago	Aceito

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

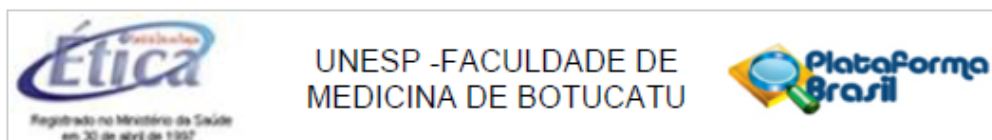
CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1608

E-mail: capellup@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 1.682.296

Ausência	5_Solicitacao_dispensa_do_TCLE.doc	28/07/2016 09:54:55	Natália Bronzatto Medolago	Aceito
Outros	4_Oficio_explicativo_sobre_a_emenda.doc	28/07/2016 09:54:31	Natália Bronzatto Medolago	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	3_Projeto_emendado_com_alteracoes_destacadas.docx	28/07/2016 09:53:44	Natália Bronzatto Medolago	Aceito
Outros	2_Relatorio_final_de_atividades_mestrado.doc	28/07/2016 09:53:05	Natália Bronzatto Medolago	Aceito
Outros	1_Oficio_orientador.doc	28/07/2016 09:52:23	Natália Bronzatto Medolago	Aceito

Situação do Parecer:

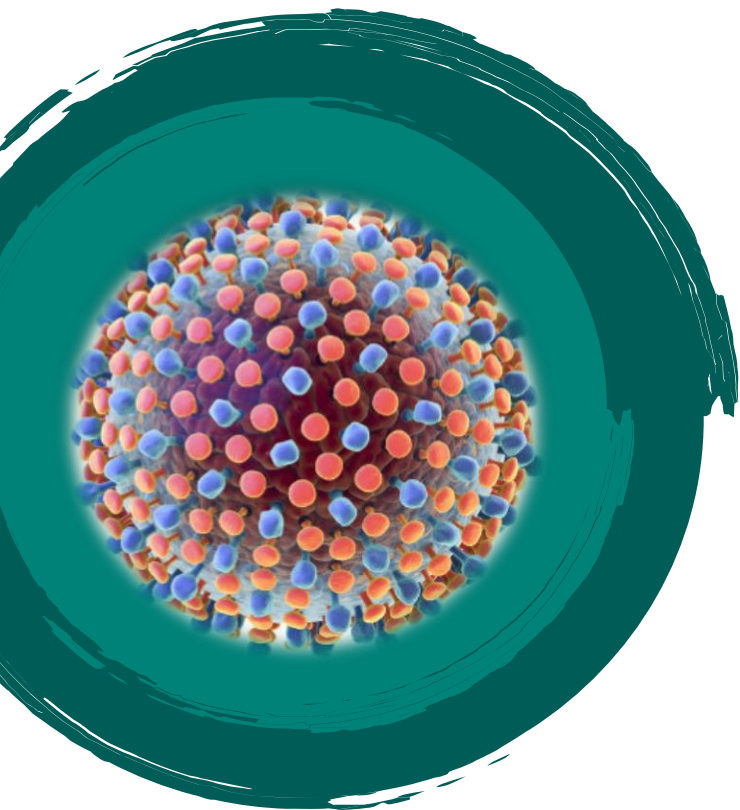
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BOTUCATU, 17 de Agosto de 2016

Assinado por:
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador)



ANEXO II

[Termo de Consentimento Livre e Esclarecido]



“Termo de Consentimento Livre e Esclarecido”

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa **“Análise de associações de polimorfismos HLA, HPA, indicadores de autoimunidade e manifestações reumatológicas na Hepatite C”** que tem como objetivo avaliar a prevalência de problemas nas articulações e verificar se esses problemas estão associados à inflamação causada pelo vírus e/ou a fatores genéticos das pessoas infectadas.

A maioria das pessoas com Hepatite C Crônica não apresentam sintomas, porém raramente pode ocorrer mal-estar, náusea, dor no abdome ou prurido (coceira). Em casos de doença avançada, onde há cirrose (cicatrizes e nódulos no fígado), nota-se o aparecimento de icterícia (pele amarelada), aumento do baço, acúmulo de líquido no interior do abdome, dilatações nas veias do esôfago e distúrbio mental devido ao aumento de toxinas circulantes. Além desses, há sintomas que não estão relacionados diretamente à doença como dores ou inflamação nas juntas devido à resposta do corpo à doença.

O motivo que nos leva a estudar o problema é que a presença de algumas células no sangue e/ou fatores genéticos de pessoas infectadas pelo VHC pode ajudar no prognóstico de problemas articulares no curso da Hepatite C crônica.

PROCEDIMENTOS DA PESQUISA

Todos os procedimentos serão realizados antes do início da terapia medicamentosa.

Serão avaliados o histórico pessoal (fatores de risco, uso de medicamentos, profissão, sexo, idade, etnia), sintomas clínicos relacionados à doença e articulares. Além disso, uma amostra de sangue será retirada através de punção venosa periférica, com agulha, identificada com nome e número do registro do Hospital, e estocada em freezer a menos 80 graus, no Hemocentro do Hospital das Clínicas de Botucatu para a realização deste trabalho e de futuras pesquisas.

Caso sua avaliação apresente alguma anormalidade entraremos em contato para fazermos o acompanhamento/tratamento/prevenção da mesma.

GARANTIA DE ESCLARECIMENTO, LIBERDADE DE RECUSA E GARANTIA DE SIGILO

Você será esclarecido(a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento.

A sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios.

O(s) pesquisador(es) irá(ão) tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Seu nome ou o material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. Você não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Uma cópia deste consentimento informado será arquivada com o pesquisador e outra será fornecida a você.

DECLARAÇÃO DO(A) PARTICIPANTE OU DO RESPONSÁVEL PELO(A) PARTICIPANTE

Eu, _____ fui informado (a) dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei solicitar novas informações e motivar minha decisão se assim o desejar. O professor orientador **Dr. Giovanni Faria Silva** e/ou a estudante **Natália Bronzatto Medolago**, certificaram-me de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais.

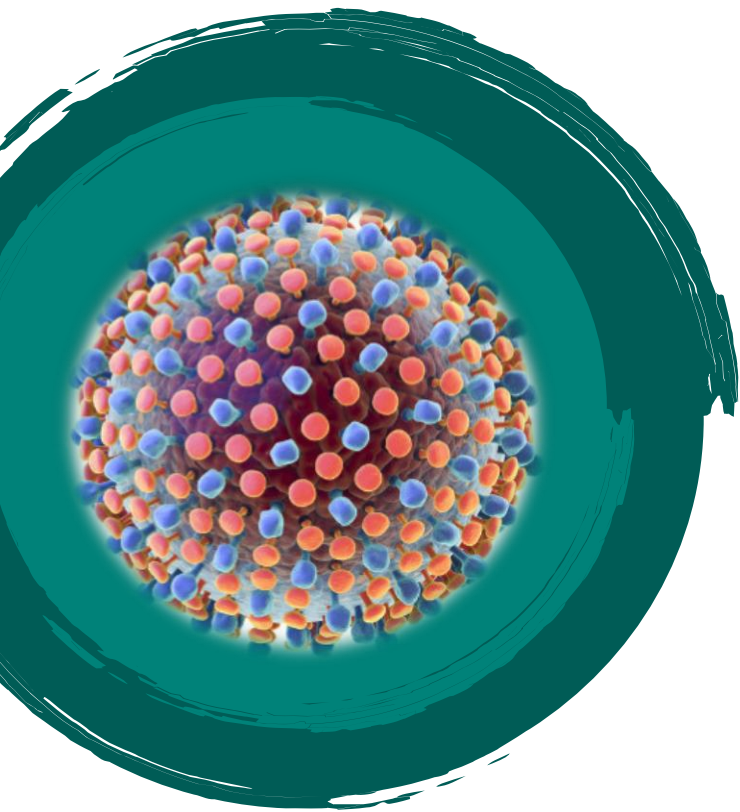
Em caso de dúvidas poderei chamá-los nos telefones (14) 3811-6213 / (14) 8149-8711 ou o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP, no telefone (14) 3811-6143.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Nome	Assinatura do Participante	Data
------	----------------------------	------

Nome	Assinatura do Pesquisador	Data
------	---------------------------	------

Nome	Assinatura da Testemunha	Data
------	--------------------------	------



ANEXO III

[Ficha de Coleta de Dados]





CCP - _____

Genótipo: _____

PROCOLO - SOROTECA CCP

Nome: _____ RG: _____

Idade: _____ Data de Nascimento: __/__/__

Estado Civil: _____ Sexo: M FProfissão: _____ Cor: B A M N

Procedência: _____ Data da Soroteca: __/__/__

Endereço: _____

Telefone: _____

ENCAMINHAMENTO:

-ANTI HCV _____

-AgHBs _____

-ANTI HBc _____

 TXR HMD

FATORES DE RISCO:

 ADIn. Há _____ ADI. Há _____ TATUAGEM. Há _____ TRANSUSÃO. Há _____ ATIVIDADE HOMOSSEXUAL PROMISCUIDADE CIRURGIA Há _____ PROFISSIONAL DA SAÚDE TRATAMENTO DENTARIO OUTROS CONTATO FAMILIAR CONTATO GRUPO RISCO ACUPUNTURA ALCOOLISMO. DOSE: _____ TABAGISMO GLUCO. Há _____ DST HMD _____ TXR _____

- Drogas em uso: _____

-Antecedente Hepatite/Ictericia: _____

MANIFESTAÇÕES CLINICAS:

 não sim Ascite Ictericia Hematomas Prurido Spiders Ginecomastia EHPS Petequias HDA Outros sangramentos:

MANIFESTAÇÕES EXTRA-HEPÁTICAS: não sim

• Órgãos acometidos:

- Sangue: Crioglobulinemia mista Trombocitopenia
 anemia aplástica Linfoma não – Hodgkins

- Pele: Porfíria Cutânea Tardia Líquen plano

- Rins: Glomerulonefrite Síndrome Nefrótica

- Tireóide: Hipotireoidismo Hipertireoidismo

- Olhos: Úlcera Córnea Uveíte
 Olhos secos Esclerite
 Prurido

- Glândulas Salivares:: Sialodinite Boca seca
 úlceras orais Glossite
 Quelite

MANIFESTAÇÕES GERAIS: não sim

- Mal estar
- Sensação de fraqueza
- Indisposição
- Febre
- Emagrecimento

SOROLOGIA:

• RNC VHC QUANTIT. _____

BIOPSIA HEPÁTICA: não sim

• RESULTADO: F= ____; CP= ____; CPP= ____; CL= ____

Exame Físico Reumatológico

1) NEUROPATIA PERIFÉRICA: não sim

- Localização: MMSS MMII

2) FENÔMENO DE RAYNAUD: não sim

- Características:

- bifásica
- trifásica
- palidez
- cianose
- hiperemia

4) ALTERAÇÕES CUTÂNEAS: não sim

- Vasculite: não sim

- Localização:

- região palmar
- região plantar
- polpas digitais
- peri-ungueal
- conjuntiva
- outros locais: _____

5) NÓDULO SUBCUTÂNEO: não sim

- Localização: _____

6) MIALGIA: não sim

7) FRAQUEZA MUSCULAR: não sim

- Localização: distal proximal

- Cintura escapular
- Cintura pélvica

8) DOR LOMBAR/ NÁDEGAS: não sim

- Características da dor: _____
- Rx: bacia (frente e Ferguson): não sim

Avaliação da Dor

