

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia

Impacto Clínico do Polimorfismo CCR5 $\Delta$ 32 em Pacientes com Hepatite C do Sul do Brasil

Aluno: Gabriel Tayguara Silveira Guerreiro

Orientador: Prof Dr José Artur Bogo Chies

Porto Alegre, 2024

### CIP - Catalogação na Publicação

Silveira Guerreiro, Gabriel Tayguara  
Impacto Clínico do Polimorfismo CCR5 $\Delta$ 32 em  
Pacientes com Hepatite C do Sul do Brasil / Gabriel  
Tayguara Silveira Guerreiro. -- 2024.  
38 f.  
Orientador: José Artur Bogo Chies.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de  
Pós-Graduação em Ciências em Gastroenterologia e  
Hepatologia, Porto Alegre, BR-RS, 2024.

1. Hepatite C. 2. CCR5 $\Delta$ 32. 3. Cirrose hepática. 4.  
Fibrose hepática. I. Bogo Chies, José Artur, orient.  
II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os  
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Gabriel Tayguara Silveira Guerreiro

Impacto Clínico do Polimorfismo CCR5 $\Delta$ 32 em Pacientes com Hepatite C do Sul do Brasil

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de doutor em Gastroenterologia e Hepatologia.

Orientador: Prof. Dr. José Artur Bogo Chies

Porto Alegre, 2024

Dedico este trabalho ao meu eu de anos atrás, que sonhava com este momento. A você, que perseverou e nunca desistiu, meu reconhecimento e orgulho por tudo o que superamos.

Dedico este trabalho também à sociedade brasileira e a todas as mentes curiosas e sedentas de conhecimento que, como eu, acreditam na ciência e no poder da educação para transformar vidas.

## Agradecimentos

Ao meu orientador prof José Artur Chiés. Sua confiança e apoio foram importantíssimas para que eu pudesse me desenvolver como pesquisador.

À UFRGS e ao Laboratório de Imunogenética pela estrutura, recursos e ambiente que possibilitaram a realização deste estudo. Este trabalho não seria possível sem a ajuda dos colaboradores, então aproveito para estender este agradecimentos a eles também.

Ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre por ter me proporcionado tantas experiências enriquecedoras enquanto profissional e pesquisador, e por ter tido a oportunidade de conhecer tantas pessoas e profissionais excelentes, os quais contribuíram positivamente em minha jornada.

Ao governo brasileiro e à sociedade brasileira que, por meio dos programas de fomento, possibilitaram minha trajetória desde a iniciação científica e o mestrado até este doutorado, sempre com uma bolsa de apoio ao pesquisador.

Aos meus pais, Inacio e Janete, e irmãos, Ina, Ber e Vanessa, pelo amor, carinho e apoio incondicional em todos os momentos. Minha vida tem muito mais sentido ao lado de vocês.

Aos meus amigos, que acompanharam de perto as dificuldades e as conquistas deste caminho, e me incentivaram a nunca desistir, deixo minha profunda gratidão. Sem dúvidas, fizeram toda a diferença nos momentos mais difíceis desta jornada. Cito com muito carinho: Natan, Josimar, Matheus, Laila, Manu, Gui, e meus queridos amigos do escritório de Pesquisa Clínica.

Agradeço por nunca ter desistido, mesmo nos momentos de maior dificuldade e desamparo.

## Resumo

A hepatite C (HCV) é uma preocupação global, contribuindo substancialmente para o ônus das doenças hepáticas, como a cirrose e o carcinoma hepatocelular. Apesar dos avanços nas terapias antivirais, que aumentaram as taxas de cura, a progressão clínica da doença e as respostas imunológicas subjacentes continuam sendo áreas importantes de pesquisa. O gene *CCR5*, conhecido principalmente por sua função na resistência ao HIV, tem recebido atenção como um possível modulador da resposta imunológica na infecção pelo HCV.

Este estudo investigou a relação entre o polimorfismo *CCR5Δ32* e a hepatite C em pacientes do sul do Brasil. Um total de 134 pacientes diagnosticados com hepatite C foram incluídos.

A genotipagem de *CCR5* foi realizada por PCR em amostras de sangue dos participantes. A maioria dos pacientes (84,3%) era homocigota para o alelo *wild type*, 14,9% eram heterocigotos e 0,7% eram homocigotos para o polimorfismo *CCR5Δ32*. Os dados demográficos e clínicos foram descritos. Os testes de qui-quadrado e regressão logística multinomial não mostraram impacto significativo do polimorfismo *CCR5Δ32* na progressão da fibrose hepática entre os pacientes ( $p > 0,05$ ).

Embora o polimorfismo *CCR5Δ32* não tenha sido um fator de risco para a progressão da fibrose em doentes com HCV, foi observada esteatose hepática em 20,1% dos doentes, com a maioria dos casos a ocorrer naqueles com o genótipo heterocigótico (75% versus 20,4% no tipo *wild type*).

Palavras-chave: Hepatite C, *CCR5Δ32*, cirrose hepática, fibrose hepática

## Abstract

Hepatitis C (HCV) is a global concern, contributing substantially to the burden of liver diseases such as cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Despite advances in antiviral therapies that have improved cure rates, the clinical progression of the disease and underlying immune responses remain key areas of research. The *CCR5* gene, primarily known for its role in HIV resistance, has gained attention as a potential modulator of the immune response in HCV infection.

This study investigated the relationship between the *CCR5*Δ32 polymorphism and hepatitis C in patients from a port city in southern Brazil. A total of 134 patients diagnosed with HCV were included. *CCR5* genotyping was performed by PCR on DNA extracted from blood samples. The majority of patients (84.3%) were homozygous for the wild-type allele, 14.9% were heterozygous, and 0.7% were homozygous for the *CCR5*Δ32 allele. Demographic and clinical data were described. Chi-square tests and multinomial logistic regression showed no significant impact of the *CCR5*Δ32 polymorphism on hepatic fibrosis progression among the patients ( $p > 0.05$ ).

Although the *CCR5*Δ32 polymorphism was not identified as a risk factor for fibrosis progression in HCV patients, hepatic steatosis was more frequently observed in carriers of the *CCR5*Δ32 allele.

Keywords: Hepatitis C, *CCR5*Δ32, Liver cirrhosis, Liver fibrosis

## Lista de abreviaturas e siglas

CCR5 - Receptor de quimiocinas C-C tipo 5.

CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

CCR5 $\Delta$ 32 - Variante do gene *CCR5*, uma deleção de 32 pares de bases.

HCV - Hepatite C (Vírus da Hepatite C).

SVR - Resposta Viroológica Sustentada.

PEG-IFN- $\alpha$  - Interferon- $\alpha$  Peguilado.

DAA - Antivirais de Ação Direta.

UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

HAS - Hipertensão Arterial Sistêmica.

DM2 - Diabetes Mellitus Tipo 2.

HCC - Carcinoma Hepatocelular.

RNI - Razão Normalizada Internacional (exame laboratorial).

LDL - Lipoproteína de Baixa Densidade.

HDL - Lipoproteína de Alta Densidade.

GGT - Gama Glutamil Transferase.

AST - Aspartato Aminotransferase.

ALT - Alanina Aminotransferase.

FIB4/APRI – *Fibrosis4 index* (índice de fibrose 4) / *Aspartate Aminotransferase to Platelet Ratio Index* (Índice de Razão entre Aspartato Aminotransferase e Plaquetas). Índices usados para avaliar fibrose hepática.

NAFLD – *Nonalcoholic fatty liver disease* (Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica)

MASLD - *Metabolic Dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease* (Doença Hepática Esteatótica Associada à Disfunção Metabólica)



# Sumário

Agradecimentos .....	5
Resumo .....	6
Abstract .....	7
Lista de abreviaturas e siglas.....	8
Sumário .....	9
Introdução.....	11
Justificativa .....	12
Objetivos.....	13
Objetivo primário .....	13
Objetivos secundários .....	13
Referencial teórico .....	14
Hepatite C .....	14
Figura 1. História natural da hepatite C crônica <sup>2</sup> .....	14
Figura 2. Prevalência relativa dos genótipos mais comuns do HCV por regiões <sup>8</sup> . O tamanho dos discos não tem correlação com a incidência total de HCV nas regiões... 15	
Figura 3. Taxa de detecção de casos de hepatite C (por 100.000 habitantes) segundo UF e capital de residência (Brasil, 2022) <sup>11</sup> .....	16
Cirrose hepática .....	17
Figura 4: Etiologia dominante relatada de cirrose de 1993 a 2021 <sup>26</sup> . Os dados foram obtidos de uma revisão sistemática da cirrose que incluiu estudos publicados no período de 1993 a 2021 <sup>27</sup> .....	17
CCR5 .....	18
Figura 5. Aspectos fundamentais do CCR5 (A) e frequência do alelo $\Delta 32$ em países selecionados (B) <sup>36</sup> .....	18
Figura 6. Efeitos fenotípicos do polimorfismo CCR5 $\Delta 32$ em células humanas <sup>36</sup> . WT/WT: genótipo homocigoto de tipo <i>wild type</i> . WT/ $\Delta 32$ : genótipo heterocigoto. $\Delta 32/\Delta 32$ : genótipo homocigoto da variante.....	19
CCR5 e Hepatite C.....	19
Supplementary material.....	21
Supplementary material 1 – ICF.....	21
Supplementary Table 1. Data on the regression model fit for the estimation of the CCR5 $\Delta 32$ polymorphism as a risk factor for fibrosis staging progression in the R <sub>Log</sub> model among HCV patients .....	23
Orçamento .....	24

Cronograma .....	24
Referências bibliográficas .....	25

# Introdução

A hepatite C (HCV) é uma infecção viral crônica que afeta milhões de pessoas em todo o mundo, sendo uma das principais causas de morbidade e mortalidade associada a doenças hepáticas graves, como a cirrose e o carcinoma hepatocelular. Embora os tratamentos antivirais tenham alcançado grandes avanços nas últimas décadas, elevando as taxas de cura para mais de 90%, a progressão clínica da doença e as respostas imunológicas continuam sendo áreas de grande interesse científico, especialmente no contexto de susceptibilidade e influência de diferentes fatores genéticos. Neste sentido, o gene *CCR5*, conhecido por seu papel na resposta imune, tem emergido como um possível modulador na infecção pelo HCV.

O *CCR5* está envolvido na infecção pelo HIV por ser o principal co-receptor viral. A resistência ao HIV está atribuída ao *CCR5Δ32*. Este gene também tem sido associado à modulação da resposta imune em outras infecções virais, incluindo a hepatite C. Estudos indicam que a presença desse polimorfismo pode influenciar a progressão clínica do HCV, mas os resultados existentes na literatura científica ainda são conflitantes. Algumas pesquisas sugerem que indivíduos com a variante *CCR5Δ32* podem apresentar uma maior suscetibilidade à infecção pelo HCV e uma progressão mais rápida da doença hepática, enquanto outros estudos relatam uma menor inflamação hepática nesses pacientes.

Este estudo justifica-se pela necessidade de compreender melhor o impacto do polimorfismo *CCR5Δ32* na hepatite C, especialmente em populações miscigenadas como a brasileira, onde a frequência desse polimorfismo pode variar significativamente. A cidade de Rio Grande, no sul do Brasil, representa um cenário relevante para esse tipo de investigação devido à sua localização portuária e à grande prevalência de infecções virais entre a população local. Compreender essa relação genética poderá contribuir para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes e direcionadas.

Assim, o objetivo deste projeto é avaliar a influência do polimorfismo *CCR5Δ32* na hepatite C em pacientes do sul do Brasil. Além disso, busca-se determinar a prevalência dessa variante na população estudada e correlacioná-la com os desfechos clínicos, como o estadiamento de fibrose hepática e a resposta ao tratamento antiviral.

# Justificativa

A hepatite C é um grave problema de saúde pública global, sendo uma das principais causas de cirrose e carcinoma hepatocelular. Embora os antivirais de ação direta (DAAs) tenham elevado as taxas de cura, há lacunas no entendimento da progressão clínica da doença e das respostas imunológicas que influenciam os diferentes desfechos clínicos. A variabilidade genética, incluindo o gene *CCR5*, pode desempenhar um papel importante na modulação da resposta imune à hepatite C.

O polimorfismo *CCR5*Δ32, conhecido por sua influência na infecção por HIV, também pode impactar a suscetibilidade a HCV e a progressão da doença hepática. No entanto, os estudos sobre a relação entre *CCR5*Δ32 e hepatite C são limitados e, muitas vezes, inconclusivos, especialmente em populações miscigenadas como a brasileira, onde a frequência alélica varia significativamente, ainda mais em uma cidade portuária. Dessa forma, esta tese busca explorar o papel do polimorfismo *CCR5*Δ32 na hepatite C em uma população portuária no sul do Brasil.

# Objetivos

## Objetivo primário

Avaliar se a presença da variante  $CCR5\Delta32$  é um fator de proteção contra a apresentação clínica da hepatite C do sul do Brasil.

## Objetivos secundários

1. Avaliar a frequência dos diferentes genótipos de *CCR5* em pacientes com hepatite C.
2. Avaliar a associação entre os diferentes genótipos de *CCR5* e a apresentação clínica dos pacientes com hepatite C.

# Referencial teórico

## Hepatite C

A hepatite C (HCV) é uma infecção viral crônica que afeta milhões de pessoas em todo o mundo, sendo uma das principais causas de morbidade e mortalidade associada a doenças hepáticas. O espectro clínico da infecção por HCV varia de apresentações assintomáticas a doenças hepáticas graves, como cirrose e carcinoma hepatocelular <sup>1</sup>. Devido à crescente prevalência global e à associação com complicações hepáticas, há uma necessidade urgente de compreender melhor os aspectos clínicos, moleculares e epidemiológicos desta infecção.

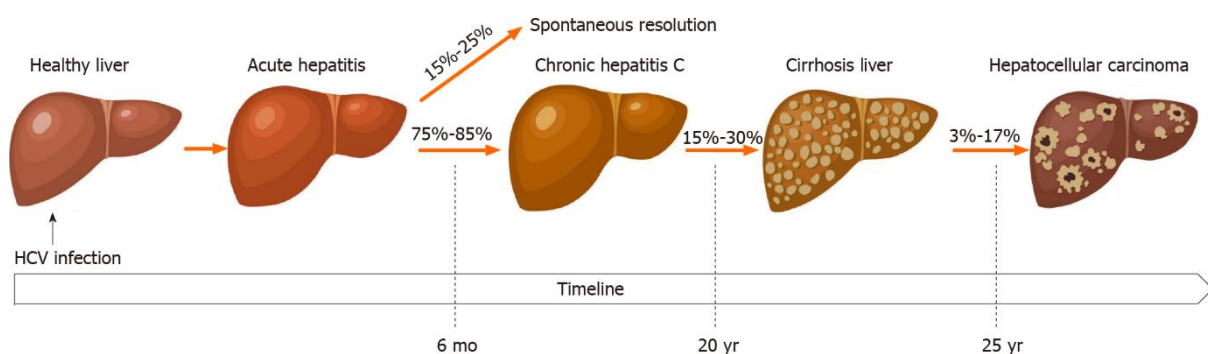


Figura 1. História natural da hepatite C crônica <sup>2</sup>

Na década de 1990, a monoterapia com interferon- $\alpha$  era o principal tratamento disponível para hepatite C crônica, mas apresentava eficácia limitada, com resposta virológica sustentada (SVR) em apenas 10% dos pacientes. A combinação de interferon- $\alpha$  peguado (PEG-IFN- $\alpha$ ) e ribavirina representou um avanço significativo, aumentando as taxas de SVR para aproximadamente 50% <sup>3</sup>. A revolução no tratamento veio com os antivirais de ação direta (DAAs), que elevaram as taxas de cura para mais de 90% <sup>4</sup>. Contudo, o alto custo dos tratamentos e a disponibilidade limitada em várias regiões do mundo permanecem como desafios, além da preocupação com a possível emergência de resistência viral <sup>5</sup>.

As principais vias de transmissão do HCV incluem o compartilhamento de seringas por usuários de drogas injetáveis, procedimentos médicos inseguros, como transfusões de sangue e transplantes de órgãos sem a devida triagem, e acidentes com agulhas entre profissionais da saúde. Outras formas de exposição incluem tatuagens, piercings, relações sexuais desprotegidas, compartilhamento de itens pessoais e a transmissão vertical, de mãe para filho <sup>6</sup>.

O HCV é altamente diverso geneticamente, sendo classificado em sete genótipos principais, com pelo menos 67 subtipos descritos. Globalmente, o genótipo 1 é o mais prevalente, representando cerca de 46% dos casos, seguido pelos genótipos 3 (22%), 2 (13%) e 4 (13%) <sup>7</sup>. Na figura 2, a prevalência relativa dos genótipos mais comuns do HCV por regiões do mundo:

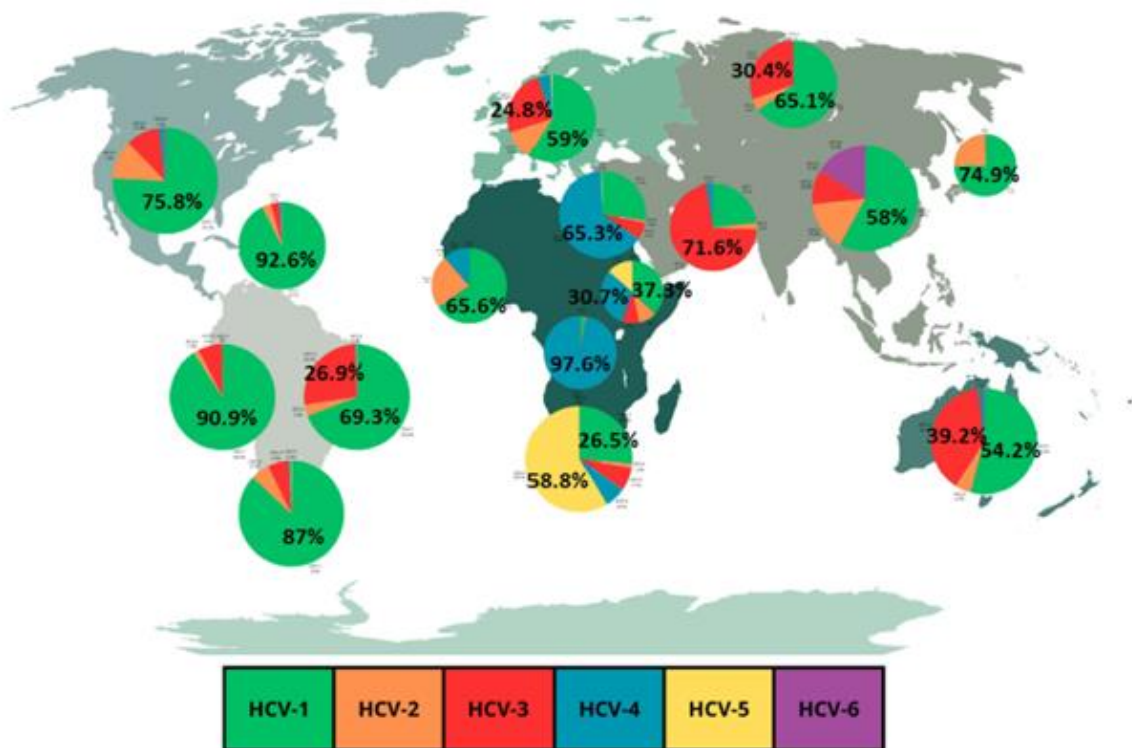


Figura 2. Prevalência relativa dos genótipos mais comuns do HCV por regiões <sup>8</sup>. O tamanho dos discos não tem correlação com a incidência total de HCV nas regiões.

No Brasil, essa distribuição reflete o cenário mundial, com o genótipo 1 predominando em 71,3% das infecções, enquanto o genótipo 3 está presente em 24,4% dos casos <sup>9</sup>. No estado do Rio Grande do Sul, a prevalência é semelhante, com 60,5% das infecções atribuídas ao genótipo 1 e 33,8% ao genótipo 3 <sup>10</sup>. Na figura 1, a taxa de detecção de casos de hepatite C (por 100.000 habitantes) segundo UF e capital de residência <sup>11</sup>:

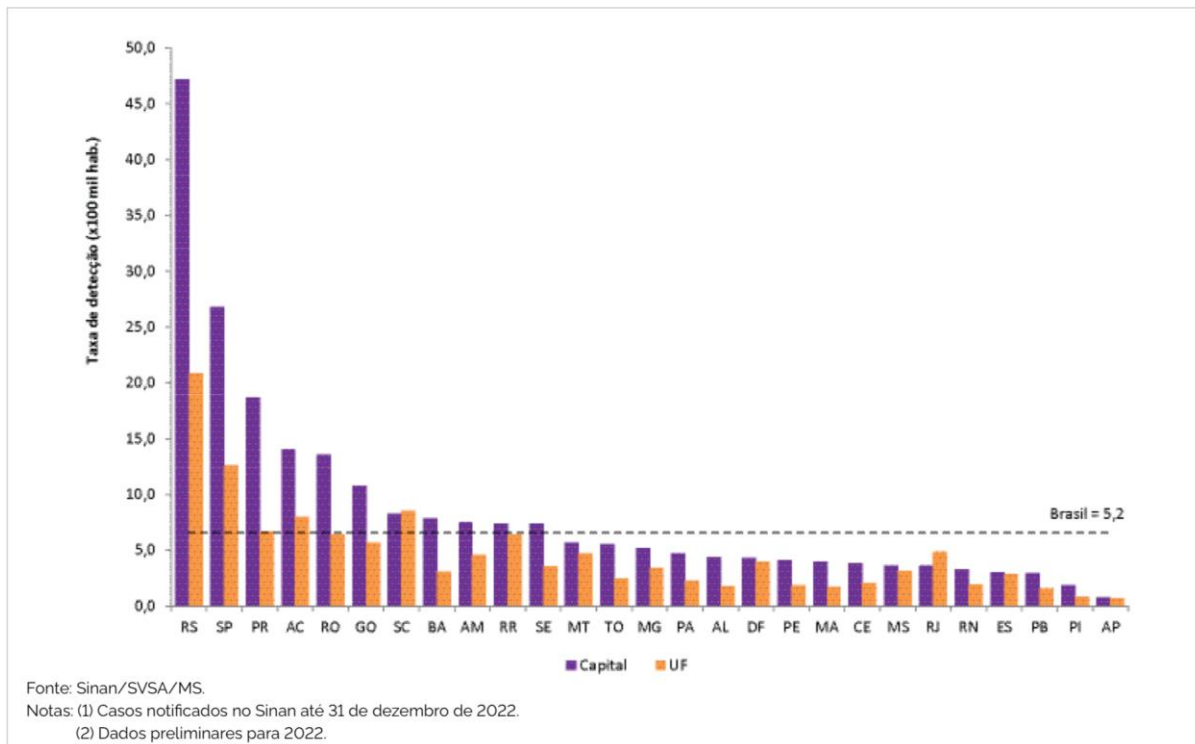


Figura 3. Taxa de detecção de casos de hepatite C (por 100.000 habitantes) segundo UF e capital de residência (Brasil, 2022) <sup>11</sup>

O HCV se replica principalmente nas células do fígado, causando inflamação que pode resultar em hepatite aguda e crônica. A fase aguda ocorre poucas semanas após a infecção e pode se manifestar com sintomas como náuseas, dor abdominal e febre. Cerca de 15 a 45% dos casos agudos podem se resolver espontaneamente, enquanto os pacientes que retêm o RNA viral no sangue progridem para a forma crônica da doença. Em 20 a 30% dos pacientes com hepatite crônica, a infecção pode evoluir para cirrose, e uma parte destes (1-4% ao ano) pode desenvolver-se carcinoma hepatocelular <sup>12</sup>.

Apesar de ser uma doença tratável, a hepatite C é muitas vezes subdiagnosticada. Com a introdução dos DAAs, o tratamento tornou-se significativamente mais eficaz, resultando em taxas elevadas de SVR e menos efeitos colaterais, em comparação aos tratamentos à base de interferon e ribavirina <sup>13</sup>. Estudos recentes também investigam a relação entre o HCV e outras condições metabólicas, como esteatose hepática e síndrome metabólica, destacando a relevância de compreender melhor os efeitos de longo prazo da cura do HCV em diversos processos metabólicos <sup>14</sup>. Os efeitos da RVS com a utilização dos DAAs já estão bem documentados na literatura <sup>15-17</sup>.

Além disso, mesmo com os avanços nas terapias e diagnósticos, aspectos importantes da resposta imune e da patogênese do HCV ainda são objeto de pesquisa, especialmente no que diz respeito à variabilidade genética do vírus, que tem impacto direto nos resultados clínicos e nas respostas terapêuticas.



## Cirrose hepática

A cirrose é uma importante causa de morbidade e mortalidade entre os pacientes com doença hepática crônica <sup>18</sup>. As principais etiologias da cirrose são a infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) e pelo vírus da hepatite C (HCV), a doença hepática associada ao álcool e a doença hepática gordurosa não alcoólica (NAFLD) <sup>19</sup>. O número estimado de pessoas com cirrose compensada foi de 112 milhões em todo o mundo, correspondendo a uma prevalência global padronizada por idade de cirrose compensada de 1.395 casos por 100.000 habitantes <sup>20</sup>.

A descompensação hepática é potencialmente evitável com terapia antiviral (na cirrose associada ao HBV e ao HCV) e mudanças no estilo de vida (na cirrose associada ao álcool e à MASLD), mas os dados epidemiológicos sugerem que a prevalência da cirrose descompensada está aumentando <sup>21</sup>. Em estudos anteriores em pacientes com cirrose compensada, a transição de um estado compensado para um estado descompensado (incluindo ascite, encefalopatia hepática e sangramento varicoso) ocorreu em uma taxa de 5 a 12% ao ano <sup>22-24</sup>. O número global de casos prevalentes de cirrose descompensada aumentou de 5,2 milhões em 1990 para 10,6 milhões em 2017 <sup>25</sup>. Em 2017, a proporção de cirrose descompensada associada à infecção por HBV e HCV, consumo de álcool, MASLD e outras causas foi de 28%, 25%, 23%, 9% e 16%, respectivamente <sup>25</sup>.

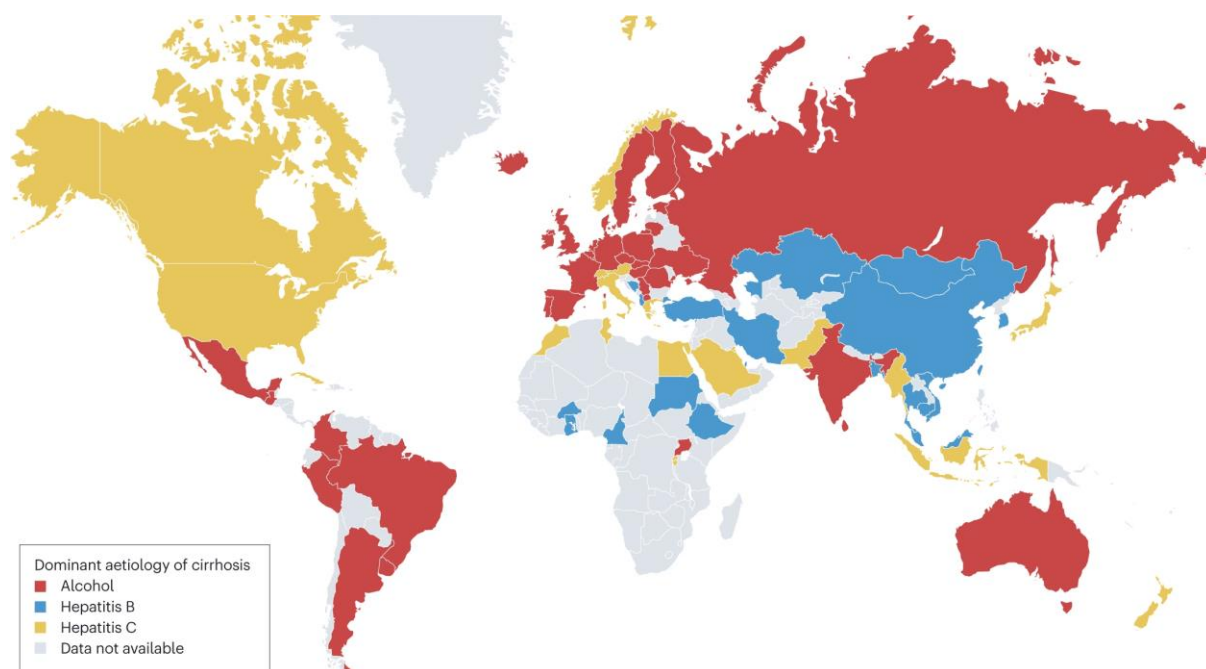


Figura 4: Etiologia dominante relatada de cirrose de 1993 a 2021 <sup>26</sup>. Os dados foram obtidos de uma revisão sistemática da cirrose que incluiu estudos publicados no período de 1993 a 2021 <sup>27</sup>

O número estimado de mortes associadas à cirrose em todo o mundo em 2019 foi de 1 472 000, sendo um aumento de 10% em relação a 2010 <sup>28</sup>. O número de mortes associadas à cirrose com diferentes etiologias variou de 134 000 mortes para cirrose associada à MASLD a 395 000 para cirrose associada ao HCV <sup>28</sup>.

## CCR5

O receptor de quimiocinas C-C tipo 5 (CCR5) é uma molécula de superfície celular expressa em macrófagos, linfócitos e monócitos, além de ser encontrada em células não hematopoiéticas. Este receptor desempenha um papel crucial na regulação de diversas funções imunológicas, especialmente na migração de leucócitos para os locais de inflamação<sup>29</sup>. O gene que codifica o CCR5 está localizado no cromossomo 3, e uma de suas variantes mais conhecidas é o CCR5 $\Delta$ 32, uma deleção de 32 pares de bases<sup>30</sup>.

A frequência alélica do CCR5 $\Delta$ 32 varia de acordo com a população, atingindo cerca de 16% em algumas populações europeias<sup>31</sup>, enquanto é rara em indivíduos de origem africana<sup>31,32</sup>. Em populações miscigenadas, como no Brasil, essa frequência alélica está descrita entre 3-6%<sup>33,34</sup>. No sul do Brasil, a prevalência da expressão wt/ $\Delta$ 32 foi de 10.1% enquanto  $\Delta$ 32/ $\Delta$ 32 foi de 0,7% em pacientes HCV+<sup>35</sup>. A figura 2 resume os aspectos básicos do CCR5 e mostra a frequência do alelo  $\Delta$ 32 em vários países.

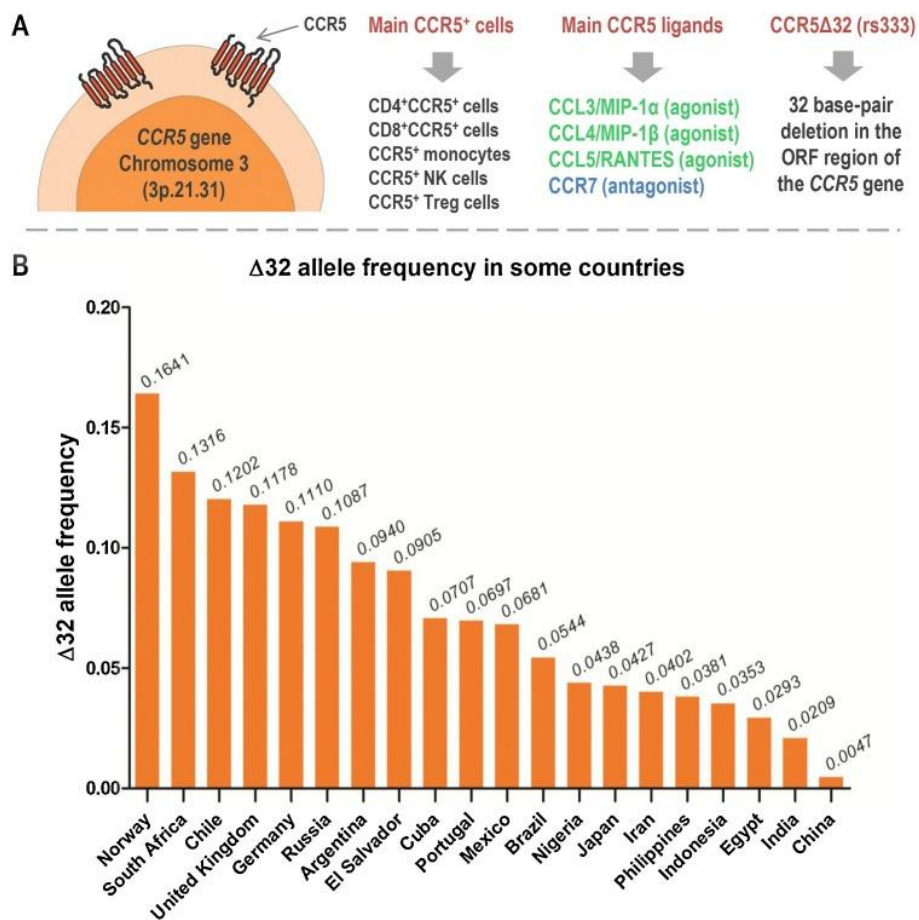


Figura 5. Aspectos fundamentais do CCR5 (A) e frequência do alelo  $\Delta$ 32 em países selecionados (B)<sup>36</sup>

Inicialmente, essa variante foi popularizada por estudos em pacientes infectados com o HIV. Indivíduos homocigotos para CCR5 $\Delta$ 32 são resistentes à infecção pelo HIV-1 devido à ausência do receptor na superfície celular, enquanto os heterocigotos apresentam uma progressão mais lenta da AIDS, atribuída à menor expressão de CCR5 funcional. A proteção

contra a infecção pelo HIV atribuída ao CCR5 $\Delta$ 32 foi descrita em 1996<sup>37-40</sup>. Na figura 4, os efeitos fenotípicos do polimorfismo CCR5 $\Delta$ 32 em células humanas.

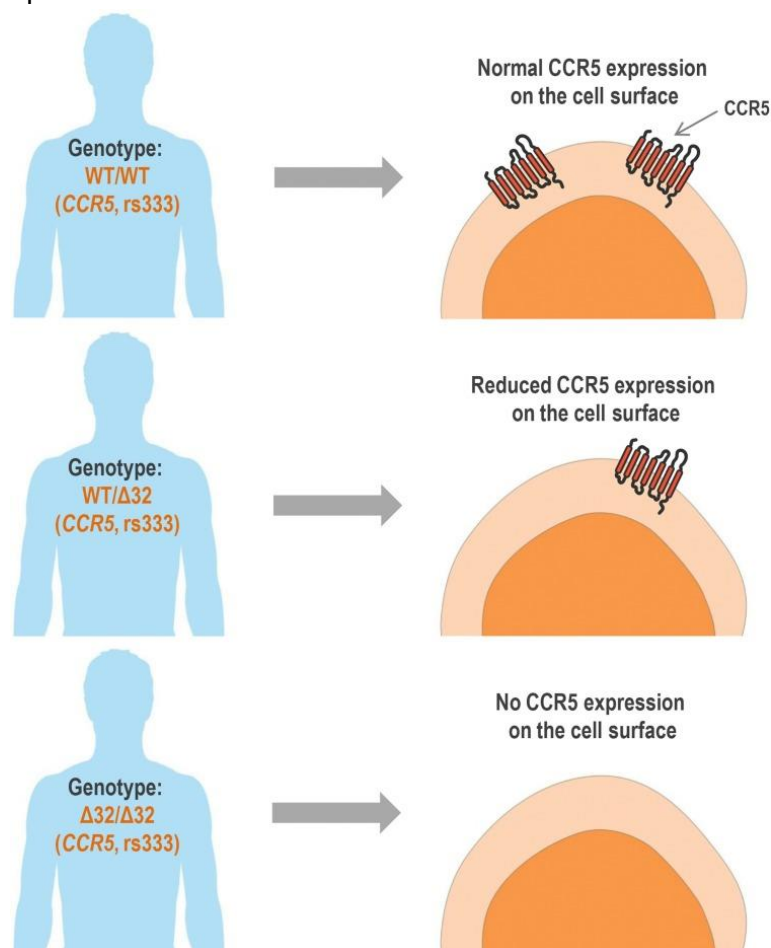


Figura 6. Efeitos fenotípicos do polimorfismo CCR5 $\Delta$ 32 em células humanas<sup>36</sup>. WT/WT: genótipo homocigoto de tipo *wild type*. WT/ $\Delta$ 32: genótipo heterocigoto.  $\Delta$ 32/ $\Delta$ 32: genótipo homocigoto da variante.

Desde então, essa descoberta levou a avanços significativos na terapia do HIV, uma vez que as implicações do CCR5 $\Delta$ 32 forneceram suporte para o desenvolvimento e o uso de bloqueadores do CCR5. Atualmente, Aplaviroc, Cenicriviroc, Maraviroc e Vicriviroc são exemplos de antagonistas de CCR5 em estudo em humanos<sup>41</sup>. Entre eles, o Maraviroc é considerado eficaz e seguro, já sendo utilizado na prática clínica<sup>42</sup>. Além da infecção pelo HIV, o CCR5 e o CCR5 $\Delta$ 32 também desempenham um papel relevante em algumas doenças associadas à inflamação<sup>43-46</sup> e em diferentes infecções virais<sup>36</sup>.

## CCR5 e Hepatite C

A infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) é fortemente influenciada por fatores genéticos do hospedeiro<sup>47</sup>. Foi sugerido que alterações na expressão do CCR5 devido ao CCR5 $\Delta$ 32 poderiam afetar a suscetibilidade à infecção pelo HCV e a progressão de doenças

relacionadas ao HCV, uma vez que a sinalização do CCR5 é importante para a resposta imune contra o HCV <sup>48,49</sup>.

Os dados sobre a importância da variante CCR5Δ32 na infecção pelo HCV são conflitantes. Já foi relatado que pacientes com infecção crônica por HCV tinham uma probabilidade significativamente maior de apresentar o genótipo homozigoto CCR5Δ32/CCR5Δ32 em comparação com um grupo controle saudável. Além disso, nesse estudo, a homozigose CCR5Δ32 foi associada a cargas virais de HCV significativamente maiores e a contagens elevadas de linfócitos T CD8+ no sangue periférico <sup>50</sup>. Esses resultados sugerem que indivíduos com o genótipo CCR5Δ32/CCR5Δ32 apresentam maior suscetibilidade à infecção pelo HCV.

Resultados divergentes foram publicados sobre a possível associação entre o polimorfismo CCR5Δ32 e o grau de hepatite associada ao HCV. Dados obtidos na coorte irlandesa "Anti-D" <sup>51</sup> e em dois outros estudos <sup>52,53</sup> mostraram uma inflamação hepática menos pronunciada em portadores do polimorfismo CCR5Δ32 em comparação com pacientes com o genótipo homozigoto *wild type*. No entanto, esses resultados não puderam ser confirmados em outras publicações <sup>54-56</sup>. No mais, foi descrita uma resposta significativamente diminuída de IFN-γ específica para HCV em células T CD8(+) de portadores do alelo CCR5Δ32, em comparação com células de pacientes com genótipo homozigoto *wild type*. Este achado sugere que os polimorfismos CCR5Δ32 podem afetar as respostas imunes celulares na infecção pelo HCV <sup>57</sup>.

Por fim, embora ainda não haja consenso absoluto, as evidências indicam que o CCR5 desempenha um papel relevante na regulação da resposta imune e, potencialmente, na modulação da resposta ao HCV <sup>58</sup>.

## Supplementary material

### Supplementary material 1 – ICF

#### 11. ANEXOS

##### ANEXO 1: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE –  
FURG  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DR. MIGUEL RIET  
CORRÊA JR  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
DA SAÚDE



IMUNOGENÉTICA DA INFECÇÃO PELO HCV: ANÁLISE EXPLORATÓRIA DO  
IMPACTO DE FATORES GENÉTICOS DO HOSPEDEIRO SOBRE A  
SUSCETIBILIDADE À INFECÇÃO PELO HCV E DESFECHO CLÍNICO DOS  
PACIENTES INFECTADOS

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

Chamo-me Vanusa Pousada da Hora, sou professora da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande e do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande. Venho por meio de este documento te convidar a participar da pesquisa nomeada “IMUNOGENÉTICA DA INFECÇÃO PELO HCV: ANÁLISE EXPLORATÓRIA DO IMPACTO DE FATORES GENÉTICOS DO HOSPEDEIRO SOBRE A SUSCETIBILIDADE À INFECÇÃO PELO HCV E DESFECHO CLÍNICO DOS PACIENTES INFECTADOS”.

- 1. Objetivo:** Avaliar de forma exploratória fatores genéticos do hospedeiro sobre a suscetibilidade à infecção pelo HCV, coinfeção com outros vírus e desfecho clínico dos pacientes infectados.
- 2. Método de coleta:** solicitamos uma amostra de sangue para realização de testes imunogenéticos. Estas amostras serão adquiridas caso você seja negativo para o vírus da hepatite C (HCV), como sobra da sua amostra como doador de sangue, para isto iremos inserir uma agulha e seringa na veia, para retirada de uma pequena quantidade de sangue. Também solicitamos que você responda um questionário.
- 3. Benefícios:** Este estudo visa beneficiar os pacientes que convivem com HCV, contribuindo com informações acerca de fatores imunogenéticos que possam influenciar no curso da infecção, com intuito de auxiliar no manejo destes pacientes.
- 4. Riscos:** Quanto a amostras de sangue coletadas, pode-se presenciar desconforto local, normal na prática de coleta sanguínea, pequeno hematoma e sangramento. Garantimos que o profissional que irá lhe coletar entende de todas as manobras para minimizar riscos e garantir seu bem-estar. Os resultados desta pesquisa serão utilizados somente para os propósitos da pesquisa e serão tratados com o mais absoluto sigilo. Sua identidade, informações prestadas e resultados dos exames laboratoriais serão confidenciais. Os resultados serão divulgados no meio científico sem qualquer identificação pessoal. Caso você se sinta com algum tipo de desconforto ao participar desta pesquisa, te garantimos atendimento integral, imediato e gratuito.

---

Você poderá entrar em contato com a pesquisadora a qualquer momento caso tenha dúvidas ou mesmo decida cancelar sua participação na pesquisa. Você tem plena liberdade para decidir participar desta pesquisa ou não, e se optar por retirar sua participação da pesquisa, poderá o fazer a qualquer momento, sem nenhum prejuízo. Você não pagará nem receberá nada para participar deste estudo. Sua participação é voluntária e o critério de inclusão é possuir mais de 18 anos de idade. Informamos que é garantido o ressarcimento de despesas decorrentes da participação na pesquisa, quando houver.

Este estudo está de acordo com a resolução CNS nº 466/2012, portando, em casos de eventuais danos decorrentes da pesquisa, garantimos indenização.

Caso você não queira participar deste estudo, continuará a receber o melhor tratamento nesse serviço.

Sua amostra de sangue coletada será armazenada pelo período de 5 anos na Faculdade de Medicina – FAMED, 4º andar do Campus Saúde no setor AICB, em freezer -80°C. O questionário da pesquisa ficará armazenado pelo mesmo período, em sala reservada na Faculdade de Medicina – FAMED, 4º andar do Campus Saúde no setor AICB, sala 302, sob responsabilidade da Profª Dra. Vanusa Pousada da Hora.

Com estas amostras sanguíneas iremos realizar testes imunogenéticos comparativos à amostras de pacientes soropositivos para HCV. Você terá acesso gratuito e a qualquer momento às informações associadas ao seu material biológico armazenado, assim como garantimos acesso às informações genéticas obtidas a partir do seu material biológico, caso solicite. Garantimos anonimato em quaisquer formas de divulgação das informações ou resultados associados ao material biológico armazenado/utilizado e questionário. Você é o proprietário do material biológico armazenado, portanto, você ou seu representante legal poderão interromper o consentimento de uso do material e/ou solicitar sua retirada a qualquer momento.

Você também poderá ter acesso às informações sobre as finalidades do armazenamento, incluindo seu responsável, os riscos e benefícios potenciais, as garantias de qualidade da conservação e integridade de seu material biológico e questionário, bem como as medidas para garantir a privacidade e a confidencialidade (todos os nomes serão substituídos por códigos, não havendo qualquer identificação pessoal nas amostras). Você será comunicado em caso de perda, alteração ou destruição de duas amostras biológicas.

Uma vez que você leu (ou lhe foi explicado, em caso de participantes não alfabetizados ou incapacitados) e entendeu o propósito desse estudo, os procedimentos que serão realizados, os riscos e benefícios, e você **VOLUNTARIAMENTE** concorda em participar, por favor assine seu nome no campo “Assinatura do participante ou digital”. Este termo é assinado em duas vias e você receberá sua via do TCLE, assim como poderá ter acesso ao registro sempre que necessitar.

Os pesquisadores responsáveis por esta pesquisa **GARANTEM** o anonimato e confidencialidade das informações, privacidade dos participantes e sigilo e proteção da sua identidade.

**CEP-FURG:** O Comitê de Ética da Universidade Federal do Rio Grande (CEP-FURG) é o órgão responsável por normatizar a pesquisa de acordo com os preceitos éticos e garantir que a pesquisa seja conduzida da forma mais correta e ética possível, garantindo a preservação do participante e do pesquisador.

E-mail CEP-FURG: [cep@furg.br](mailto:cep@furg.br)

Telefone CEP-FURG: 3237.3013

Nome do Participante: \_\_\_\_\_

Assinatura do Participante (ou digital em caso de impossibilidade de assinatura):

\_\_\_\_\_

Rio Grande, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

**Contato da Pesquisadora responsável – Vanusa Pousada da Hora**

**Telefone:** (53) 9710-4044 **E-mail:** [dahoravp@gmail.com](mailto:dahoravp@gmail.com)

Assinatura do responsável pela pesquisa

*Vanusa P. da Hora*

Supplementary Table 1. Data on the regression model fit for the estimation of the CCR5 $\Delta$ 32 polymorphism as a risk factor for fibrosis staging progression in the R<sub>Log</sub> model among HCV patients

Model	Deviance	AIC	BIC	R <sup>2</sup> <sub>McF</sub>	R <sup>2</sup> <sub>CS</sub>	R <sup>2</sup> <sub>N</sub>	Overall Model Test		
							X <sup>2</sup>	df	p
1	277	285	296	0,0140	0,00972	0,0194	3,93	2	0,140

## Orçamento

<b>Materiais</b>	<b>Custo (R\$)</b>
Reagentes para extração de DNA	8 000
Reagentes para biologia molecular ( <i>buffer, dntp, taq polimerase, agarose, etc</i> )	11 500
Plásticos e descartáveis (ponteiras, tubos, luvas, etc) utilizáveis em laboratório	3 000
<b>Total</b>	<b>22 500</b>

Todos os materiais utilizados neste projeto já estavam disponíveis no laboratório.

## Cronograma

	2023		2024	
	1° sem	2° sem	1° sem	2° sem
Revisão da literatura	X	X	X	X
Análises moleculares		X	X	X
Análise dos resultados e redação científica			X	X



## Referências bibliográficas

1. Sallam, M. & Khalil, R. Contemporary Insights into Hepatitis C Virus: A Comprehensive Review. *Microorganisms* **12**, 1035 (2024).
2. Luna-Cuadros, M. A. *et al.* Risk of hepatocellular carcinoma after hepatitis C virus cure. *World J Gastroenterol* **28**, 96–107 (2022).
3. Heim, M. H. 25 years of interferon-based treatment of chronic hepatitis C: an epoch coming to an end. *Nat Rev Immunol* **13**, 535–542 (2013).
4. Kohli, A., Shaffer, A., Sherman, A. & Kottlil, S. Treatment of Hepatitis C. *JAMA* **312**, 631 (2014).
5. Liang, T. J. & Ghany, M. G. Current and Future Therapies for Hepatitis C Virus Infection. *New England Journal of Medicine* **368**, 1907–1917 (2013).
6. Maheshwari, A. & Thuluvath, P. J. Management of Acute Hepatitis C. *Clin Liver Dis* **14**, 169–176 (2010).
7. Gower, E., Estes, C., Blach, S., Razavi-Shearer, K. & Razavi, H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol* **61**, S45–S57 (2014).
8. Oliveira Correa, J. D. & Chies, J. A. B. The COVID-19 Pandemic Affected Hepatitis C Virus Circulation and Genotypic Frequencies—Implications for Hepatitis C Prevention, Treatment and Research. *Epidemiologia* **5**, 160–166 (2024).
9. Blach, S. *et al.* Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol* **2**, 161–176 (2017).
10. MINME, R., HOLZMANN, I., TOVO, C. V. & ALMEIDA, P. R. L. de. PROFILE OF PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C IN A PUBLIC HEALTH PROGRAM IN SOUTHERN BRAZIL. *Arq Gastroenterol* **55**, 403–406 (2018).
11. Ministério da Saúde - Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. *Boletim Epidemiológico - Hepatites Virais 2023*. (2023).
12. Rosen, H. R. Chronic Hepatitis C Infection. *New England Journal of Medicine* **364**, 2429–2438 (2011).
13. Spengler, U. Direct antiviral agents (DAAs) - A new age in the treatment of hepatitis C virus infection. *Pharmacol Ther* **183**, 118–126 (2018).
14. Chaudhari, R., Fouda, S., Sainu, A. & Pappachan, J. M. Metabolic complications of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol* **27**, 1267–1282 (2021).
15. Bhattacharya, D. *et al.* Hepatitis C Guidance 2023 Update: American Association for the Study of Liver Diseases— Infectious Diseases Society of America Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C Virus Infection. *Clinical Infectious Diseases* (2023) doi:10.1093/cid/ciad319.
16. Sallam, M. & Khalil, R. Contemporary Insights into Hepatitis C Virus: A Comprehensive Review. *Microorganisms* **12**, 1035 (2024).
17. Nyalakonda, H. & Utay, N. S. A new era of therapy for hepatitis C virus infection. *Curr Opin Infect Dis* **28**, 471–478 (2015).
18. Ginès, P. *et al.* Liver cirrhosis. *The Lancet* **398**, 1359–1376 (2021).
19. Moon, A. M., Singal, A. G. & Tapper, E. B. Contemporary Epidemiology of Chronic Liver Disease and Cirrhosis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* **18**, 2650–2666 (2020).

20. Sepanlou, S. G. *et al.* The global, regional, and national burden of cirrhosis by cause in 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Gastroenterol Hepatol* **5**, 245–266 (2020).
21. Huang, D. Q. *et al.* Global epidemiology of cirrhosis — aetiology, trends and predictions. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* **20**, 388–398 (2023).
22. Fleming, K. M., Aithal, G. P., Card, T. R. & West, J. The rate of decompensation and clinical progression of disease in people with cirrhosis: a cohort study. *Aliment Pharmacol Ther* **32**, 1343–1350 (2010).
23. Jepsen, P., Ott, P., Andersen, P. K., Sørensen, H. T. & Vilstrup, H. Clinical course of alcoholic liver cirrhosis: A Danish population-based cohort study. *Hepatology* **51**, 1675–1682 (2010).
24. D’Amico, G., Garcia-Tsao, G. & Pagliaro, L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: A systematic review of 118 studies. *J Hepatol* **44**, 217–231 (2006).
25. Sepanlou, S. G. *et al.* The global, regional, and national burden of cirrhosis by cause in 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Gastroenterol Hepatol* **5**, 245–266 (2020).
26. Huang, D. Q. *et al.* Global epidemiology of cirrhosis — aetiology, trends and predictions. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* **20**, 388–398 (2023).
27. Alberts, C. J. *et al.* Worldwide prevalence of hepatitis B virus and hepatitis C virus among patients with cirrhosis at country, region, and global levels: a systematic review. *Lancet Gastroenterol Hepatol* **7**, 724–735 (2022).
28. Vos, T. *et al.* Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet* **396**, 1204–1222 (2020).
29. Ellwanger, J. H. & Chies, J. A. B. Host immunogenetics in tick-borne encephalitis virus infection—The CCR5 crossroad. *Ticks Tick Borne Dis* **10**, 729–741 (2019).
30. Raport, C. J., Gosling, J., Schweickart, V. L., Gray, P. W. & Charo, I. F. Molecular Cloning and Functional Characterization of a Novel Human CC Chemokine Receptor (CCR5) for RANTES, MIP-1 $\beta$ , and MIP-1 $\alpha$ . *Journal of Biological Chemistry* **271**, 17161–17166 (1996).
31. Solloch, U. V. *et al.* Frequencies of gene variant CCR5- $\Delta$ 32 in 87 countries based on next-generation sequencing of 1.3 million individuals sampled from 3 national DKMS donor centers. *Hum Immunol* **78**, 710–717 (2017).
32. Martinson, J. J., Chapman, N. H., Rees, D. C., Liu, Y.-T. & Clegg, J. B. Global distribution of the CCR5 gene 32-basepair deletion. *Nat Genet* **16**, 100–103 (1997).
33. Silva-Carvalho, W. H. V., de Moura, R. R., Coelho, A. V. C., Crovella, S. & Guimarães, R. L. Frequency of the CCR5 -delta32 allele in Brazilian populations: A systematic literature review and meta-analysis. *Infection, Genetics and Evolution* **43**, 101–107 (2016).
34. Ellwanger, J. H. *et al.* CCR5 $\Delta$ 32 in HCV infection, HCV/HIV co-infection, and HCV-related diseases. *Infection, Genetics and Evolution* **59**, 163–166 (2018).
35. Ellwanger, J. H. *et al.* CCR5 $\Delta$ 32 in HCV infection, HCV/HIV co-infection, and HCV-related diseases. *Infection, Genetics and Evolution* **59**, 163–166 (2018).
36. Ellwanger, J. H. *et al.* Beyond HIV infection: Neglected and varied impacts of CCR5 and CCR5 $\Delta$ 32 on viral diseases. *Virus Res* **286**, 198040 (2020).
37. Samson, M. *et al.* Resistance to HIV-1 infection in Caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature* **382**, 722–725 (1996).

38. Liu, R. *et al.* Homozygous Defect in HIV-1 Coreceptor Accounts for Resistance of Some Multiply-Exposed Individuals to HIV-1 Infection. *Cell* **86**, 367–377 (1996).
39. Dean, M. *et al.* Genetic Restriction of HIV-1 Infection and Progression to AIDS by a Deletion Allele of the *CCR5* Structural Gene. *Science* (1996) **273**, 1856–1862 (1996).
40. Brelot, A. & Chakrabarti, L. A. CCR5 Revisited: How Mechanisms of HIV Entry Govern AIDS Pathogenesis. *J Mol Biol* **430**, 2557–2589 (2018).
41. Vangelista, L. & Vento, S. The Expanding Therapeutic Perspective of CCR5 Blockade. *Front Immunol* **8**, (2018).
42. Brites, C., Nóbrega, I. & Martins Netto, E. Use of new antiretroviral drugs and classes in Bahia, Brazil: a real life experience on salvage therapy of AIDS patients. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* **19**, 529–532 (2015).
43. Schauben, J. *et al.* CCR5 $\Delta$ 32 in systemic lupus erythematosus: implications for disease susceptibility and outcome in a Brazilian population. *Lupus* **22**, 802–809 (2013).
44. Scheibel, I. *et al.* Differential CCR5 $\Delta$ 32 allelic frequencies in juvenile idiopathic arthritis subtypes: evidence for different regulatory roles of CCR5 in rheumatological diseases. *Scand J Rheumatol* **37**, 13–17 (2008).
45. Martin-Blondel, G., Brassat, D., Bauer, J., Lassmann, H. & Liblau, R. S. CCR5 blockade for neuroinflammatory diseases — beyond control of HIV. *Nat Rev Neurol* **12**, 95–105 (2016).
46. Kohem, C. L. *et al.* The chemokine receptor CCR5 genetic polymorphism and expression in rheumatoid arthritis patients. *Scand J Rheumatol* **36**, 359–364 (2007).
47. Ellwanger, J. H. *et al.* Immunogenetic studies of the hepatitis C virus infection in an era of pan-genotype antiviral therapies - Effective treatment is coming. *Infection, Genetics and Evolution* **66**, 376–391 (2018).
48. Coenen, M. & Nattermann, J. The role of CCR5 in HCV infection. *Eur J Med Res* **15**, 97 (2010).
49. Ahlenstiel, G. CC-chemokine receptor 5 (CCR5) in hepatitis C--at the crossroads of the antiviral immune response? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **53**, 895–898 (2004).
50. Woitas, R. P. *et al.* Frequency of the HIV-protective CC chemokine receptor 5- $\Delta$ 32/ $\Delta$ 32 genotype is increased in hepatitis C. *Gastroenterology* **122**, 1721–1728 (2002).
51. Goulding, C. The CCR5- 32 mutation: impact on disease outcome in individuals with hepatitis C infection from a single source. *Gut* **54**, 1157–1161 (2005).
52. Hellier, S. *et al.* Association of genetic variants of the chemokine receptor CCR5 and its ligands, RANTES and MCP-2, with outcome of HCV infection. *Hepatology* **38**, ajhep09027 (2003).
53. Wald, O. *et al.* The CCR5 $\Delta$ 32 allele is associated with reduced liver inflammation in hepatitis C virus infection. *European Journal of Immunogenetics* **31**, 249–252 (2004).
54. Wasmuth, H. E. *et al.* CC chemokine receptor 5  $\Delta$ 32 polymorphism in two independent cohorts of hepatitis C virus infected patients without hemophilia. *J Mol Med* **82**, 64–69 (2004).
55. Ruiz-Ferrer, M., Barroso, N., Antiñolo, G. & Aguilar-Reina, J. Analysis of CCR5- $\Delta$ 32 and CCR2 -V64I polymorphisms in a cohort of Spanish HCV patients using Real-time Polymerase Chain Reaction and Fluorescence Resonance Energy Transfer technologies. *J Viral Hepat* **11**, 319–323 (2004).

56. Goyal, A. CCR5 $\Delta$ 32 mutation does not influence the susceptibility to HCV infection, severity of liver disease and response to therapy in patients with chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol* **12**, 4721 (2006).
57. Ahlenstiel, G. *et al.* Effects of the CCR5- $\Delta$ 32 Mutation on Hepatitis C Virus-Specific Immune Responses in Patients with Haemophilia. *Immunol Invest* **38**, 1–13 (2009).
58. Coenen, M. & Nattermann, J. The role of CCR5 in HCV infection. *Eur J Med Res* **15**, 97 (2010).