



ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO RS1012068 (T/G) DO GENE *DEPDC5* COM A PROGRESSÃO DA DOENÇA HEPÁTICA CRÔNICA EM PACIENTES INFECTADOS COM HEPATITE C

Gabriela Borges¹
Camila Guerra Marangon²
Daniel Simon³

Resumo

O vírus da hepatite C (HCV) atualmente infecta 3% da população mundial, sendo comum a relação do vírus com a progressão para carcinoma hepatocelular (HCC). O *DEPDC5* codifica uma proteína que faz parte da regulação do ciclo celular. Estudos indicam que o polimorfismo rs1012068 (T/G) nesse gene está associado com o desenvolvimento do HCC. O objetivo deste estudo visa analisar a associação entre o polimorfismo rs1012068 (T/G) do gene *DEPDC5* com a progressão da doença hepática crônica em pacientes infectados com hepatite C. Amostra foi constituída de 194 pacientes com doença hepática decorrente da infecção crônica pelo HCV (97 pacientes cirróticos e 97 pacientes com HCC) e 97 indivíduos doadores de banco de sangue, sem infecção pelo HCV (grupo controle). O DNA foi amplificado por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR), em tempo real. Do total da amostra, a média de idade de diagnóstico da infecção viral foi de $51,6 \pm 10,9$ anos. Não foram observadas diferenças significativas nas frequências alélicas e genotípicas entre casos e controles ($p=0,446$ e $p=0,606$, respectivamente). Em conclusão, os resultados do presente estudo não mostram a associação entre o polimorfismo rs1012068 do gene *DEPDC5* e a progressão da doença hepática crônica em pacientes infectados com HCV.

Palavras chave: HCV; carcinoma hepatocelular; *DEPDC5*; polimorfismo genético.

INTRODUÇÃO

O vírus da hepatite C (HCV) é um vírus RNA da família flaviviridae, com genoma em fita simples. Ele é o causador da doença infecciosa de mesmo nome e constitui um grave problema de saúde pública. Estima-se que 3% da população mundial esteja contaminada, sendo relevante o número de pessoas que desconhece o fato de albergar o vírus. Além disso, anualmente, são diagnosticados três milhões de novos casos (WHO, 2015). No Brasil, de 1975 a 2015, aproximadamente 152.712 mil casos de hepatite C foram notificados no Sistema de Investigação de Agravos - Sinan (Ministério da Saúde, 2012) e de 2000 a 2014 foram identificados, pelo SIM, 56.335 óbitos associados às hepatites virais dos tipos A, B, C e D. Desses, 75,2% estão associados à hepatite C.

O HCV é essencialmente hepatotrópico, sendo assim, responsável por infecções aguda e crônica. A infecção aguda geralmente apresenta forma assintomática, o que dificulta o diagnóstico precoce (DOUAM et al., 2016). Estima-se que das pessoas infectadas, 70 a 85%, desenvolvem a forma crônica mantendo um processo inflamatório hepático por mais de seis meses. Destas pessoas, 20 a 30% evoluem para cirrose e, dos cirróticos, 1,0 a 5,0% desenvolvem carcinoma hepatocelular (HCC). Acredita-se que a persistência da infecção se deve à falha na resposta imune e a capacidade do vírus de contornar a defesa imunológica do hospedeiro (DOUAM et al., 2016).

1 Aluna do curso de graduação Ciências Biológicas – Bolsista PROBITI/FAPERGS – gabibiborges@gmail.com

O carcinoma hepatocelular é uma doença agressiva e complexa e pode estar associada a diversos fatores de risco, como coinfeções crônicas pelos vírus das hepatites B e C (VENOOK et al., 2010; YANG et al., 2010), tabagismo, alcoolismo, como também, a exposição à aflatoxina B1. Porém, devido ao fato de alguns pacientes expostos as mesmas condições não desenvolverem a doença, acredita-se que mecanismos genéticos possam estar envolvidos neste processo (NAUGLER et al., 2008; POGRIBNY et al., 2014).

O gene *DEPDC5* codifica uma proteína que faz parte de um complexo proteico que regula proteínas de vias de sinalização do ciclo celular, porém sua função biológica ainda não foi esclarecida. O polimorfismo rs1012068 (T/G), deste gene, apresenta o alelo G associado ao desenvolvimento do hepatocarcinoma em pacientes japoneses infectados com o HCV (MIKI et al., 2011).

O objetivo deste estudo visa analisar a associação entre o polimorfismo rs1012068 (T/G) do gene *DEPDC5* com a progressão da doença hepática crônica em pacientes infectados com hepatite C.

METODOLOGIA

O estudo foi conduzido com pacientes HCV positivos atendidos no Serviço de Gastroenterologia-Hepatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e indivíduos saudáveis do banco de sangue do HCPA. Todos os pacientes incluídos no estudo assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, autorizando sua participação na pesquisa. A amostra de casos foi composta por indivíduos adultos de ambos os sexos, tendo como critérios de exclusão pacientes diagnosticados com Doença de Wilson, hemocromatose, neoplasias malignas e coinfeção com o vírus da hepatite B e/ou vírus da imunodeficiência humana. Os dados sociodemográficos e psicossociais foram obtidos por entrevista e com o auxílio de questionário epidemiológico e os dados clínicos, laboratoriais e anatomopatológicos foram obtidos por revisão dos prontuários médicos.

As amostras de sangue dos pacientes foram coletadas por punção venosa em tubos de 4 mL, utilizando-se ácido etilenodiamino tetra-acético sódico (EDTA) como anticoagulante. As amostras foram centrifugadas para a separação do plasma e da papa leucocitária em tubos específicos e armazenadas e estocadas a -80°C. O DNA foi extraído pelo método de *salting out* descrito por Lahiri e Nurnberger (1991) a partir de amostras de sangue. O material genético foi amplificado por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR), em tempo real utilizando os ensaios validados TaqMan® SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, Foster City, CA), conforme as instruções do fabricante.

As frequências alélicas foram determinadas pela contagem direta dos alelos. As associações entre genótipos do polimorfismo, assim como os desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg foram avaliados pelo teste de qui-quadrado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo foi conduzido com 194 pacientes HCV positivos com cirrose ou HCC (casos) e 97 indivíduos saudáveis (controles). A amostra é constituída em sua maior parte por indivíduos brancos (71,6%). A média de idade dos pacientes foi de $62,2 \pm 7,9$ anos e 105 (54,1%) são do sexo feminino. Do total da amostra, a média de idade de diagnóstico da infecção viral foi de $51,6 \pm 10,9$ anos, sendo que 52,1% dos participantes acreditam que foram contaminados por transfusão sanguínea, seguido por 39,7% dos pacientes que não sabem informar o fator de risco para a hepatite C. As frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo no gene *DEPDC5* estão representadas na Tabela 1. Não foram observadas diferenças significativas nas frequências alélicas e genotípicas entre casos e controles ($p=0,446$ e $p=0,606$, respectivamente).

Tabela 1. Distribuição das frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo no gene *DEPDC5* entre pacientes com doença hepática crônica de etiologia viral e controles saudáveis.

rs1012068	Total (n=291)	Pacientes cirróticos (n=97)	Pacientes com HCC (n=97)	p ^a	Controles (n=97)	p ^b
Alelo				0,446		>0,999
G	188 (32,3)	58 (30,8)	65 (34,6)		65 (34,6)	
T	394 (67,7)	136 (34,6)	129 (32,7)		129 (32,7)	
Codominância				0,606		0,949
GG	28 (9,6)	7 (25,0)	11 (39,3)		10 (35,7)	
GT	132 (45,4)	44 (33,3)	43 (32,6)		45 (34,1)	
TT	131 (45,0)	46 (35,1)	43 (32,8)		42 (32,1)	
Modelo dominante				0,322		0,817
GG	28 (9,6)	7 (25,0)	11 (39,3)		10 (35,7)	
GT+TT	263 (90,4)	90 (34,3)	86 (32,7)		87 (33,1)	
Modelo recessivo				0,666		0,885
TT	131 (45,0)	46 (35,1)	43 (32,8)		42 (32,1)	
GT+GG	160 (55,)	51 (31,9)	54 (33,7)		55 (34,4)	

Variáveis expressas em números (porcentagem); HCC: carcinoma hepatocelular; ^a valor de p para a comparação entre pacientes com cirrose versus pacientes com HCC; ^b valor de p para a comparação entre pacientes com HCC versus controles

CONCLUSÕES ou CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados do presente estudo não mostram a associação entre o polimorfismo rs1012068 do gene *DEPDC5* e a progressão da doença hepática crônica em pacientes infectados com hepatite C.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

REFERÊNCIAS

DOUAM F., DING Q., PLOSS A.; Recent advances in understanding hepatitis C., London, v. 5.pii: F1000 Faculty Rev-131, p. 1-10, Fev. 2016.

MIKI D., OCHI H., HAYES CN., ABE H, YOSHIMA T., AIKATA H, IKEDA K., KUMADA H., TOYOTA J., MORIZONO T., TSUNODA T., KUBO M., NAKAMURA Y., KAMATANI N., CHAYAMA K.; Variation in the *DEPDC5* locus is associated with progression to hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C virus carriers, Nat Genet., New York, v. 43, n. 8, p. 797-800, Jul. 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, BRASIL. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais [homepage na internet]. Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais. Disponível em:

<http://www.aids.gov.br/publicacao/2012/boletim_epidemiologico_de_hepatites_virais_2012> Acesso em: 12 Jan. 2017.

NAUGLER WE, SCHWARTZ JM. Hepatocellular carcinoma, *Dis Mon.*, Chicago, v. 54, n. 7, p. 432-444, Jul. 2008.

POGRIBNY IP., RUSYN I.; Role of epigenetic aberrations in the development and progression of human hepatocellular carcinoma, *Cancer Lett.*, Limerick, v. 342, n. 2, p. 223-230, Jan. 2014.

Secretaria da Saúde do Paraná. Hepatite C - CID10: B17.1 Doenças Infecciosas e Parasitárias [homepage na internet]. Disponível em: <<http://www.saude.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=519>> Acesso 28 Maio 2017.

VENOOK AP.; The incidence and epidemiology of hepatocellular carcinoma: a global and regional perspective. *Oncologist*. Dayton, v. 15 (Suppl 4), p. 5-13, September 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection – 2015. Disponível em: <<http://www.who.int/hiv/pub/hepatitis/hepatitis-c-guidelines/en/>> Acesso em: 12 Jan. 2017.

YANG JD, ROBERTS LR. Epidemiology and management of hepatocellular carcinoma. *Infect Dis Clin North Am.*, Philadelphia, v. 24, n. 4, p. 899-919, Dec