A INFLUÊNCIA DOS POLIMORFISMOS DA APOLIPOPROTEÍNA E NA GRAVIDADE DA CIRROSE HEPÁTICA CRÔNICA

Andrêina Abigail Queiroz Santana[1]
Luis Henrique De Freitas[2]
Jose Carlos Rodrigues Nascimento[3]

RESUMO

Introdução: A cirrose é a fase final da fibrose hepática, caracterizando-se pela destruição da arquitetura hepática normal. O diagnóstico envolve a avaliação clínica de fatores de risco, exames laboratoriais, endoscopia, imagens e biópsia. Critérios como o Model for End-Stage Liver Disease (MELD) e o escore de Child-Turcotte-Pugh (Child-Pugh). A apolipoproteína E (ApoE), produzida no fígado, é crucial no metabolismo lipídico e pode influenciar a progressão da cirrose, com o alelo E4 possivelmente atuando como protetor contra a fibrose. **Objetivo:** Avaliar a influência dos alelos E2, E3 e E4 da ApoE na gravidade da lesão hepática pelo MELD e pelo escore Child-Pugh. **Métodos:** O estudo recrutou 56 pacientes com cirrose hepática crônica por HCV, com ou sem carcinoma hepatocelular (HCC), entre março de 2022 e maio de 2024, nos hospitais HGF e HUWCF. A genotipagem do polimorfismo da ApoE foi realizada utilizando amostras de células bucais, com extração de DNA e amplificação por qRT-PCR no LABICONTE da UFC. Análises descritivas incluíram frequências alélicas apresentadas em percentagens. Todos os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), e o protocolo foi aprovado pelos Comitês de Ética dos hospitais. **Resultados:** A frequência dos alelos E2, E3 e E4 da APOE foi de 21,4%, 65,2% e 13,4%, respectivamente. O genótipo mais comum foi E3/E3 (46,4%). Não houve diferença estatística significativa nos alelos e genótipos em relação à etiologia da cirrose e à gravidade pelo MELD e Child-Pugh. Contudo, a média do alelo E4 foi menor comparada aos alelos E2 e E3. **Conclusão:** Embora não tenha havido significância estatística, o alelo E4 parece estar associado a uma menor gravidade da cirrose induzida por HCV, sugerindo um efeito protetor. Estudos adicionais com amostras maiores são necessários para confirmar essa associação e sua relevância clínica.

Palavras-chave: Apolipoproteína E4; Cirrose Hepática; Técnicas de Genotipagem; Transplant.

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), Ceará, Discente, andreinaqueiroz123@gmail.com[1]
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), Ceará, Discente, luizhenrique@aluno.unilab.edu.br[2]
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), Ceará, Docente, jose.nascimento@unilab.edu.br[3]

ISSN: 2447-6161

INTRODUÇÃO

A cirrose representa a fase final da fibrose hepática avançada, caracterizando-se pela destruição da arquitetura hepática normal. A avaliação clínica envolve a identificação de fatores de risco e um exame físico minucioso para reconhecer sinais de doença hepática crônica. O diagnóstico é estabelecido através de exames laboratoriais, endoscopia digestiva alta, técnicas de imagem e biópsia hepática. Os modelos prognósticos mais utilizados são o Child-Turcotte-Pugh e o MELD (Model for End-Stage Liver Disease) (SILVA, 2010).

Por conseguinte, a distinção entre cirrose compensada e descompensada é feita por meio do escore de Child-Pugh, que avalia o comprometimento da função hepática com base em encefalopatia, ascite, níveis de bilirrubina sérica, tempo de protrombina (TP) e albumina sérica. Na classe A, os pacientes têm de 5 a 6 pontos, com uma mortalidade pós-operatória estimada em até 10%. Na classe B, a pontuação varia de 7 a 9, com uma mortalidade estimada de 30%. Na classe C, com pontuação de 10 a 15, a mortalidade pode alcançar até 80% (FRANCOZ et al., 2008; TSORIS et al., 2020). Um escore de Child-Pugh superior a 7 (classe B) indica descompensação hepática, sendo um critério para inclusão na lista de espera para transplante hepático.

Ademais, o escore MELD, introduzido por Malinchoc et al. (2000), avalia a urgência do transplante hepático em pacientes acima de 12 anos e foi validado como preditor de sobrevida em cirróticos, incluindo os candidatos a transplante (KAMATH et al., 2001). Este sistema é utilizado em vários países para alocação de pacientes na lista de espera, com pontuação que varia de 6 a 40. Pacientes com MELD de 0 a 11 apresentam uma mortalidade pós-operatória de 5-10%, enquanto aqueles com MELD entre 12 e 25 têm mortalidade variando de 25 a 54%, e os com MELD acima de 25 podem ter uma mortalidade de até 90%. O cálculo do MELD é baseado nos logaritmos de valores de creatinina, bilirrubina total e Relação Normalizada Internacional (INR) (BARBOSA et al., 2010; KAMATH et al., 2001; TELEM et al., 2010).

A apolipoproteína E (APOE) é uma glicoproteína com um peso molecular de 34 kDa, que desempenha um papel essencial nas lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e atuando como um ligante para o receptor de lipoproteína de baixa densidade (LDL-R). Sua produção ocorre principalmente no fígado, embora também seja sintetizada em outros órgãos, como baço, cérebro, rins, pulmões, glândulas adrenais, macrófagos-monócitos e tecidos musculares. A APOE tem funções importantes no reparo neuronal, na regulação da homeostase lipídica, bem como no transporte e no metabolismo de triglicérides e colesterol. Além disso, exerce funções anti-inflamatórias, promovendo a conversão do fenótipo macrofágico pró-inflamatório M1 para o M2 e reduzindo a síntese de interleucina-2 (IL-2). Também desempenha um papel em atividades imunomoduladoras, como a ativação e proliferação de linfócitos T (TUDORACHE et al., 2017).

O gene da APOE apresenta polimorfismo e está situado no cromossomo 19 (19q13), resultando em três isoformas: E2, E3 e E4, além de seis possíveis genótipos: E2/E2, E2/E3, E2/E4, E3/E3, E3/E4 e E4/E4. Esse polimorfismo decorre da substituição de uma única base nitrogenada (timina por citosina) em duas posições importantes da região codificadora da APOE (posições 112 e 158) (HUEBBE; RIMBACH, 2017; MAHLEY; RALL, 2000). Pesquisas indicam que esses polimorfismos podem afetar a progressão da doença hepática crônica, sendo que o alelo E4 parece ter uma associação protetora contra a progressão da fibrose hepática (NASCIMENTO et al., 2020). Além disso, a APOE tem sido relacionada a diversas doenças, como Alzheimer, aterosclerose, hepatopatias causadas pelo HCV, infecções pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), tuberculose pulmonar, diarreia infantil e infecções pelo vírus herpes simplex (MAHLEY; RALL, 2000; ORIA et al., 2007; NASCIMENTO et al., 2020).Dessa forma, objetiva-se avaliar a influência dos alelos E2, E3 e E4 da apolipoproteína E (ApoE) na gravidade da lesão hepática, utilizando os modelos de pontuação MELD e Child-Turcotte-Pugh (CHILD).

ISSN: 2447-6161

METODOLOGIA

Este estudo observacional e descritivo foi realizado no laboratório da UPC / IBIMED-UFC, envolvendo 56 pacientes diagnosticados com cirrose hepática, recrutados entre março de 2022 e maio de 2024 no Hospital Universitário Walter Cantídeo (HUWC) e entre março de 2023 e maio de 2024 no Hospital Geral de Fortaleza (HGF). Os participantes, de ambos os sexos e com idade igual ou superior a 18 anos, foram incluídos, exceto aqueles que se recusaram a participar ou estavam inconscientes.

As amostras para a genotipagem da apolipoproteína E (ApoE) foram coletadas a partir de células bucais durante o pré-operatório de transplante hepático, juntamente com dados de marcadores sorológicos para diagnóstico de hepatite. A coleta foi realizada durante consultas de rotina, utilizando uma escova para a superfície da bochecha e expectoração da saliva em um tubo estéril de polipropileno. As amostras foram refrigeradas para análises laboratoriais posteriores. O DNA foi extraído com kits comerciais baseados em coluna de sílica e amplificado por qRT-PCR com Syber Green, conforme descrito por CALERO et al. (2009). A genotipagem foi conduzida no Laboratório de Biologia da Cicatrização, Ontogenia e Nutrição de Tecidos (LABICONTE) da UFC.

As análises descritivas das amostras incluíram a frequência alélica relatada em percentagens por grupo. Todos os pacientes foram abordados pela equipe de pesquisa, que explicou o protocolo do estudo e garantiu que a não participação não resultaria em descontinuação dos cuidados ou tratamento médico. Cada paciente ou acompanhante leu e assinou voluntariamente o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLA). O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HUWC (parecer nº 5.240.508) e pelo CEP do HGF (parecer nº 5.873.138).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo incluiu 56 pacientes candidatos a transplante de fígado (TOF) diagnosticados com cirrose hepática crônica, sendo essa condição resultante da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV), com ou sem a presença de carcinoma hepatocelular (HCC). Dentre os participantes, 18 apresentaram exclusivamente infecção por HCV, enquanto 38 tinham cirrose associada a HCC.

A análise dos alelos da apolipoproteína E (APOE) revelou as seguintes frequências: E2 (21,4%), E3 (65,2%) e E4 (13,4%). O genótipo mais prevalente na amostra foi E3/E3, identificado em 26 dos 56 pacientes, o que representa 46,4% da população estudada.

A comparação dos alelos e genótipos da APOE em relação à etiologia da cirrose e à gravidade, medida pelos modelos MELD e Child-Pugh, não apresentou diferenças estatísticas significativas. Contudo, foi observado que a média do alelo E4 estava inferior no grupo classificado pelo MELD, em comparação com os alelos E2 e E3. Um MELD menor associado ao alelo E4 sugere que esse alelo pode estar relacionado a uma gravidade menos severa da doença, indicando uma possível influência protetora na progressão da cirrose.

Quanto à classificação pelo índice Child-Pugh, os resultados mostraram que 30 dos 56 pacientes (53,6%) foram categorizados como Child-Pugh A, 23 (41,1%) como Child-Pugh B, e apenas 3 (5,3%) foram classificados como Child-Pugh C. Esses dados indicam uma predominância de pacientes em estágios menos graves da cirrose na amostra analisada.

Tabela 1: Relação dos Genótipos e Alelos da ApoE com a Etiologia da cirrose, MELD e CHILD-Pugh

n= frequências alélicas; M ± DP= média ± desvio padrão. APOE= Apolipoproteína E; HCV= vírus da hepatite C; HCC= carcinoma hepatocelular; MELD= modelo para doença hepática terminal; APRI= índice AST/razão

ISSN: 2447-6161

plaquetária; FIB4= fibrose 4.
Fonte: Autores, 2024.

CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, este estudo sugere que, embora não tenha sido alcançada significância estatística, o alelo E4 da apolipoproteína E (APOE) pode estar associado a uma gravidade reduzida da cirrose hepática crônica induzida pelo vírus da hepatite C (HCV). Especificamente, a média do alelo E4 foi menor no contexto do escore MELD, o que pode indicar um efeito protetor desse alelo na progressão da fibrose hepática em comparação com os alelos E2 e E3. Essas observações levantam a hipótese de que o alelo E4 poderia desacelerar a progressão da doença e, portanto, ser considerado como um potencial marcador prognóstico. No entanto, para validar essas implicações e entender melhor a influência do alelo E4 nas decisões terapêuticas, são necessárias investigações adicionais com amostras maiores e mais robustas. Essa abordagem permitirá uma avaliação mais precisa do papel da APOE na patologia da cirrose e na escolha do tratamento adequado para esses pacientes.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha profunda gratidão ao professor José Carlos Rodrigues Nascimento, meu orientador, cuja orientação e apoio foram fundamentais para a realização deste trabalho. Seu conhecimento e dedicação foram inspiradores ao longo de todo o processo. Agradeço também à Funcap pelo financiamento deste projeto, que possibilitou a execução da pesquisa. Minha gratidão se estende ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica, que ofereceu a oportunidade de desenvolver habilidades essenciais e contribuir para o avanço do conhecimento científico. A todos que contribuíram direta ou indiretamente para este estudo, meu sincero agradecimento.

REFERÊNCIAS

1. BARBOSA, F. C.; FERREIRA, F. G.; RIBEIRO, M. A.; SZUTAN, L. A. Cuidados pré-operatórios em hepatopatas. Revista da Associação Médica Brasileira, São Paulo, v. 56, n. 2, p. 222-226, 2010.
2. CALERO, O. et al. Apolipoprotein E genotyping method by real time PCR, a fast and cost-effective alternative to the TaqMan and FRET assays. Journal of Neuroscience Methods, Amsterdam, v. 183, p. 238-240, 2009.
3. FRANCOZ, C.; DURAND, F. The risk of surgery in patients with cirrhosis. Acta Gastroenterologica Belgica, Bruxelas, v. 71, p. 42-46, 2008.
4. HUEBBE, P.; RIMBACH, G. Evolution of human apolipoprotein E (APOE) isoforms: Gene structure, protein function and interaction with dietary factors. Ageing Research Reviews, v. 37, p. 146-161, 2017.
5. KAMATH, P. S. et al. A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. Hepatology, v. 33, p. 464-470, 2001.
6. MAHLEY, R. W.; RALL, S. C. Jr. Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein. Annual Review of Genomics and Human Genetics, v. 1, p. 507-537, 2000.
7. MAHLEY, R. W. Apolipoprotein E: from cardiovascular disease to neurodegenerative disorders. Journal of Molecular Medicine (Berlin), v. 94, p. 739-746, 2016.

ISSN: 2447-6161

8. MALINCHOC, M. et al. A model to predict poor survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunts. Hepatology, v. 31, p. 864-871, 2000.
9. NASCIMENTO, J. C. R. et al. Impact of apolipoprotein E genetic polymorphisms on liver disease: An essential review. Annals of Hepatology, v. 19, p. 24-30, 2020.
10. ORIA, R. B. et al. Role of apolipoprotein E4 in protecting children against early childhood diarrhea outcomes and implications for later development. Medical Hypotheses, v. 68, p. 1099-1107, 2007.
11. SILVA, I. S. Cirrose hepática. Revista Brasileira de Medicina, v. 67, n. 4, p. 111-120, 2010.
12. TELEM, D. A.; SCHIANO, T. et al. Factors that predict outcome of abdominal operations in patients with advanced cirrhosis. Clinical Gastroenterology and Hepatology, v. 8, p. 451-457, 2010.
13. TSORIS, A.; MARLAR, C. A. Use of the Child Pugh Score in liver disease. In: STAT PEARLS. Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing, 2020.
14. TUDORACHE, I. F.; TRUSCA, V. G.; GAFENCU, A. V. Apolipoprotein E – A multifunctional protein with implications in various pathologies as a result of its structural features. Computational and Structural Biotechnology Journal, v. 15, p. 359-365, 2017.

ISSN: 2447-6161