

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO
Curso de Biomedicina

Giovana Faria Devides
Michelle Landi Jorge

ASPECTOS IMUNOLÓGICOS E VACINAIS DO
VÍRUS DA HEPATITE C: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

São Paulo
2019

Giovana Faria Devides

Michelle Landi Jorge

**ASPECTOS IMUNOLÓGICOS E VACINAIS DO
VÍRUS DA HEPATITE C: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pelo Prof. Dr. Michelangelo Juvenale, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

São Paulo

2019

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Padre Inocente Radrizzani

Jorge, Michelle Landi

Aspectos imunológicos e vacinais do vírus da hepatite C: uma revisão bibliográfica / Giovana Faria Devides, Michelle Landi Jorge. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2019.
66 p.

Orientação de Michelangelo Juvenale.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro Universitário São Camilo, 2019.

1. Antivirais 2. Hepacivírus 3. Hepacivírus - imunologia 4. Hepacivírus - terapia 5. Hepatite 6. Vacinas - prevenção e controle I. Jorge, Michelle Landi II. Juvenale, Michelangelo III. Centro Universitário São Camilo IV. Título

CDD: 616.3623

Giovana Faria Devides

Michelle Landi Jorge

**ASPECTOS IMUNOLÓGICOS E VACINAIS DO
VÍRUS DA HEPATITE C: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

São Paulo, 22 de maio de 2019



Professor Orientador - Prof. Dr. Michelangelo Juvenale



Professor Examinador - Prof. Dr. Renato Tesser

AGRADECIMENTOS

Eu, Giovana Faria Devides....

Agradeço primeiramente a Deus, aos meus pais Roseley e Paulo, minha avó Maria e tio Eugenio, que sempre acreditaram no meu potencial e nunca deixaram que faltassem nada durante os quatro anos de graduação.

A minha dupla Michelle, que sempre esteve comigo em todos os momentos da graduação, e durante toda a elaboração deste trabalho.

Também meus amigos de classe, Danielle, Jonathan, Felipe, Rosane e também minha amiga de infância e classe Marcela, por estar comigo desde os momentos mais felizes até os mais difíceis.

Agradeço ao Prof. Dr. Michelângelo Juvenale pela orientação e comentários que sempre agregaram na elaboração deste trabalho. Aos membros da banca Dr. Renato Tesser e Dr. Humberto Valvassori por todas as colocações e pontuações para aperfeiçoamento do trabalho.

Por último e não menos especial, ao meu companheiro de caminhada Vitor por me dar todo suporte necessário nestes anos de graduação e excepcionalmente nesta reta final.

AGRADECIMENTOS

Eu, Michelle Landi Jorge...

Agradeço primeiramente a Deus pela vida e oportunidades concedidas.

À minha mãe, Ana Maria, que apesar das dificuldades, me apoiou e entendeu a importância desta etapa em minha vida e ao meu padrinho, João (Tete), por estar ao meu lado sempre.

Ao professor Dr. Michelangelo, por ter acreditado e confiado em mim, por seu comprometimento com seu papel de orientador e por todos os comentários e puxadas de orelhas, que foram fundamentais para o desenvolvimento do trabalho.

Aos professores da banca, Dr. Humberto Valvassori e Dr. Renato Tesser pelas valiosas sugestões oferecidas para o aperfeiçoamento do trabalho.

À minha dupla, Giovana, por seu comprometimento e companheirismo em todas as horas da elaboração deste trabalho.

Aos meus amigos de classe, Marcela, Isabela e Felipe, pelas sugestões e por estarem disponíveis em momentos de euforia que antecederam a defesa e também pelo companheirismo ao longo do curso. Além dos colegas que também estiveram ao meu lado durante todos esses anos de graduação, nos momentos felizes e de apreensão, Danielle, Jonathan, Rosane, Natalia e Gisele.

À minha supervisora de campo de estágio, Milena Dropa, que apesar de pouco tempo de orientação, é uma inspiração para mim, tanto no âmbito profissional como pessoal.

Por fim, é especial a minha gratidão ao meu companheiro de longa data, Leandro, por ter ficado ao meu lado em momentos difíceis e me apoiado em todas as escolhas, além de ser minha maior inspiração acadêmica e profissional.

"Nunca deixe alguém te dizer que você não pode fazer algo. Se você tem um sonho, tem que protegê-lo. As pessoas não conseguem vencer e dizem que você também não vai vencer. Se você quer alguma coisa, corra atrás."

(Frases do filme "A procura da felicidade")

DEVIDES, G. F.; JORGE, M. L. **Aspectos Imunológicos e Vacinais do Vírus da Hepatite C: uma revisão bibliográfica.** 2019. 66f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Centro Universitário São Camilo. São Paulo. 2019.

O vírus da hepatite C (HCV) é um vírus hepatotrópico, significativo para a saúde pública mundial, pois detém alto índice de morbimortalidade em consequência de cirrose e carcinoma hepatocelular. Anualmente, as hepatites virais provocam aproximadamente 1,4 milhão de óbitos e o HCV é responsável por grande parte desta mortalidade. Este estudo visa abordar aspectos imunológicos da infecção pelo HCV, enfatizando aspectos vacinais. Dos diferentes agentes causais de hepatites mais frequentes no Brasil – A, B e C – o HCV é o único para qual ainda não existe uma vacina profilática. Pesquisas quanto ao desenvolvimento da mesma é o foco de diversos pesquisadores ao redor do mundo, que medem esforços para criar uma vacina preventiva na tentativa de combater o vírus e encontram desafios no percurso, como sua hipervariabilidade genética. O HCV tem 7 genótipos e diversos subtipos, além de diferentes *quasispecies* circulantes em diferentes indivíduos. Diversas linhas de pesquisas vacinais como, vacinas de DNA, proteínas recombinantes, peptídeos e vacinas baseadas em vetores virais chegaram a ensaios clínicos de fase I e II. Com o atual desenvolvimento dos novos antivirais de ação direta (DAAs), o tratamento da doença avançou surpreendentemente, com aumento da resposta virológica sustentada (RVS) em mais de 90%, propiciando um panorama otimista em relação à eliminação do vírus mundialmente. Apesar disso, a vacinação é uma intervenção de saúde pública bem-sucedida e uma das medidas preventivas mais importantes dos tempos modernos, tratando-se de um fator crucial no combate ao vírus.

Palavras-chave: antivirais; *Hepacivirus*; *Hepacivirus*-imunologia; *Hepacivirus*-terapia; hepatite; vacinas-prevenção e controle.

DEVIDES, G. F.; JORGE, M. L. **Immunological and Vaccine Aspects of Hepatitis C Virus: a literature review.** 2019. 66f. (Bachelor in Biomedicine) - Centro Universitário São Camilo. São Paulo. 2019.

Hepatitis C virus (HCV) is a hepatotropic virus, which is significant for global public health, since it has a high morbimortality index as a consequence of cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Viral hepatitis causes approximately 1.4 million deaths annually and HCV accounts for a large part of this mortality. This study aims to address immunological aspects of HCV infection, emphasizing vaccine aspects. Of the different causative agents of hepatitis most frequent in Brazil - A, B and C - HCV is the only one for which a prophylactic vaccine does not yet exist. Research on the development of the virus is the focus of several researchers around the world, who are trying to create a preventive vaccine in an attempt to fight the virus and find challenges along the way, such as its genetic hypervariability. HCV has 7 genotypes and several subtypes, besides different quasispecies circulating in different individuals. Several lines of vaccine research, such as DNA vaccines, recombinant proteins, peptides and vaccines based on viral vectors, have reached phase I and II clinical trials. With the current development of the new direct action antivirals (DAAs), the treatment of the disease progressed surprisingly, with an increase in sustained virological response (SVR) over 90%, providing an optimistic scenario regarding the elimination of the virus worldwide. Despite this, vaccination is a successful public health intervention and one of the most important preventive measures of modern times, being a crucial factor in combating the virus.

Keywords: antiviral drugs; *Hepacivirus*; *Hepacivirus*-immunology; *Hepacivirus* therapy; hepatitis; vaccines-prevention and control.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivos gerais.....	13
2.2 Objetivos específicos	13
3 METODOLOGIA.....	14
4 VÍRUS DA HEPATITE C (HCV)	15
4.1 Genoma.....	15
4.2 Proteínas estruturais	16
4.3 Proteínas não estruturais	18
4.4 Replicação viral	19
4.5 Hipervariabilidade genética	23
4.5.1 Genótipos e subtipos.....	24
4.5.2 <i>Quasispecies</i>	26
5 EPIDEMIOLOGIA.....	27
5.1 Hepatites virais.....	27
5.2 Hepatite C no mundo	27
5.3 Hepatite C no Brasil	27
6 IMUNOLOGIA DO HCV.....	29
6.1 Imunidade Inata e Adaptativa	29
6.2 Mecanismos de evasão do sistema imune.....	36
7 TRATAMENTO PARA HEPATITE C.....	39
8 VACINA PROFILÁTICA.....	41
8.1 Categorias de vacinas.....	44
8.1.1 Vacinas de proteínas recombinantes	44
8.1.2 Vacinas de peptídeos sintéticos	45
8.1.3 Vacinas de DNA	45

8.1.4 Vacinas de vetores virais.....	46
8.1.5 Vacinas baseadas em cultura de células virais	47
8.1.6 Vacinas baseadas em células dendríticas.....	47
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

1 INTRODUÇÃO

Hepatites virais são doenças causadas por diferentes agentes causais, distribuídos universalmente, tendo o hepatotropismo em comum. As hepatites virais mais frequentes no Brasil, são A, B e C; o vírus da hepatite C (HCV) é o único para qual não há uma vacina (FERREIRA; SILVEIRA, 2004).

O HCV é um vírus de genoma RNA da família *Flaviviridae*, que foi inicialmente detectado no soro de um indivíduo com hepatite não-A/não-B. O período médio de incubação do vírus varia de 6 a 8 semanas. Cerca de 95% dos portadores do vírus não apresentam manifestações clínicas na fase aguda da infecção. A cronicidade juntamente com o caráter silencioso da infecção leva ao desenvolvimento de cirrose e hepatocarcinoma, tratando-se de um dos principais responsáveis por doenças hepáticas em estágio terminal em todo o mundo (MARTINS, 2010; CHOO *et al.*, 1989; NGUYEN, L.H; NGUYEN, M. H, 2013 *apud* ANDRADE, 2013).

A transmissão pode ocorrer por via parenteral, após exposições percutâneas diretas ao sangue, como por transfusão ou transplante de doadores infectados e uso de drogas injetáveis (MARTINS, 2010). Além disso, pode ser transmitida pelo contato com materiais perfuro-cortantes, além de relações sexuais desprotegidas, apesar deste último ser menos comum. Após o desenvolvimento do primeiro teste de identificação de anticorpo contra o HCV em 1992, as transfusões sanguíneas tornaram-se mais seguras (STRAUSS, 2001 *apud* ANDRADE, 2013). No entanto, os outros mecanismos de transmissão mencionados são determinantes para a infecção viral (ANDRADE, 2013).

Visto que o HCV é responsável por uma proporção considerável de doenças hepáticas mundialmente, com 170 milhões de pessoas infectadas, uma vacina profilática representa um grande avanço que seria de grande benefício para o sistema público de saúde, uma vez que vacinas têm se mostrado como a estratégia mais bem sucedida e de melhor custo-benefício para prevenir infecções (ZINGARETTI; FRANCESCO; ABRIGNANI, 2014).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Compor revisão bibliográfica acerca dos aspectos essenciais e também particularidades do vírus da hepatite C (HCV), seus mecanismos de desenvolvimento, quadro e epidemiologia.

2.2 Objetivos específicos

Destacar as bases da terapia antiviral e alguns estudos vacinais em andamento.

3 METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão bibliográfica descritiva em livros relacionados ao tema de microbiologia e imunologia e artigos científicos em bases de dados como PubMed, Medline e Google Acadêmico, além dos portais de revistas eletrônicas LILACS e Scielo. Foram utilizados como filtros de pesquisa: idioma (português e inglês), período (1989-2019) e operadores booleanos “and” e “or”. Os descritores utilizados foram: *HCV; hepatitis C; vaccine; DAAs; direct-acting antiviral; immunology of hepatitis C; HCV genome; HCV life cycle*, entre outros.

4 VÍRUS DA HEPATITE C (HCV)

4.1 Genoma

O HCV é um vírus RNA da família *Flaviviridae*, com genoma em fita simples de polaridade positiva medindo 9,7 kilobases de comprimento (ROSEN; GRETCH, 1999 *apud* STRAUSS, 2001). Seu genoma contém uma fase de leitura aberta, do inglês *Open Reading Frame* (ORF), que codifica para uma poliproteína precursora flanqueada por regiões não codificantes, do inglês *untranslated region* (UTR), nas extremidades denominadas 5' UTR e 3' UTR. A região 5' UTR (~341 nucleotídeos) é altamente conservada, região esta onde encontra-se um *hairpin*¹ altamente estruturado, que inclui os primeiros 30-40 nucleotídeos da região codificadora da proteína core (44-383 nucleotídeos). A região 3' UTR possui uma estrutura tripla com uma sequência variável *upstream*², seguida por uma sequência poli-U de comprimento variável e uma sequência altamente conservada de 98 nucleotídeos *downstream*³, região essencial para a replicação viral (ARGENTINI *et al.*, 2009).

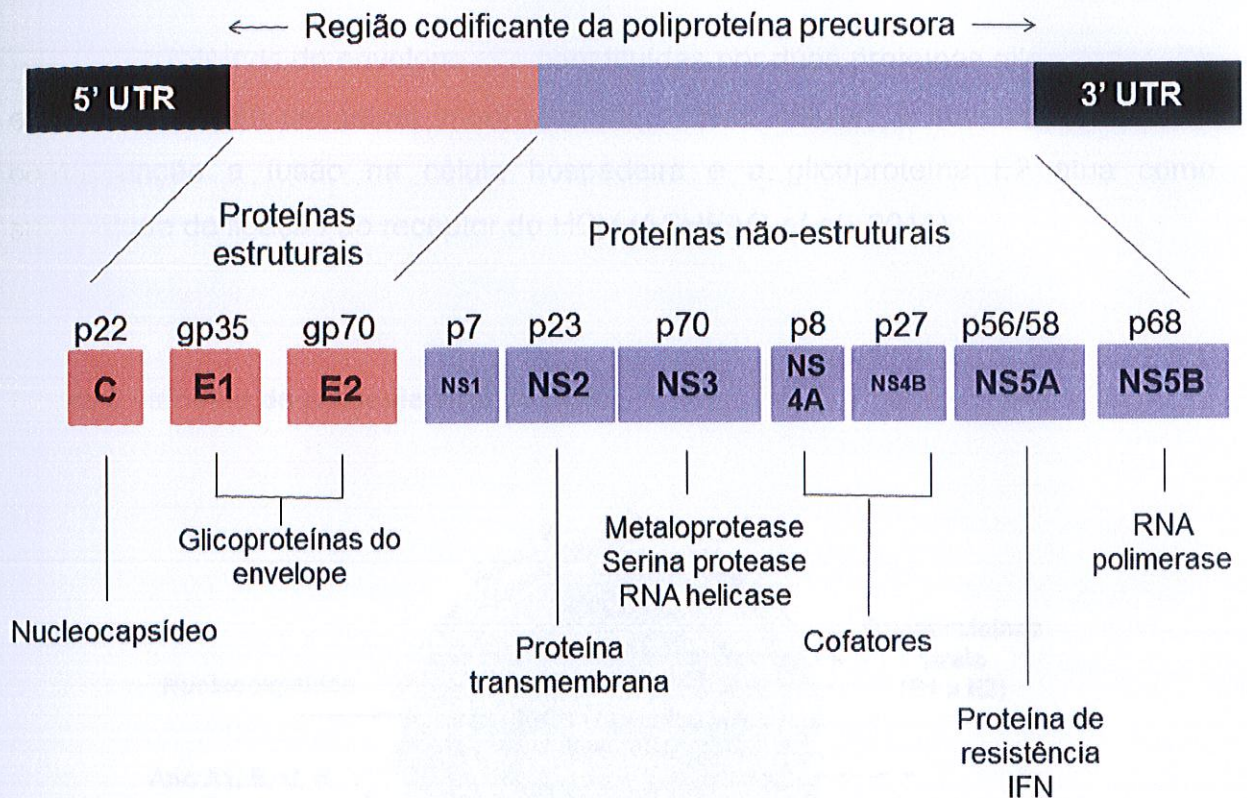
As proteínas estruturais (core, E1 e E2) estão localizadas na região N-terminal da poliproteína precursora e as proteínas não-estruturais (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B) estão localizadas na região C-terminal. Uma sequência codificante para a pequena proteína denominada P7 está localizada entre os elementos estruturais e não estruturais (figura 1) (ARGENTINI *et al.*, 2009).

¹ Fragmento de mRNA que se dobra e forma pares de bases com outra seção da mesma cadeia. A estrutura resultante tem forma de U (SCITABLE, 2014).

² Na fita de RNA, qualquer coisa em direção a 5' de um ponto de referência está '*upstream*' a este ponto (OMICS INTERNATIONAL, 2019).

³ Na fita de RNA, qualquer coisa em direção a 3' de um ponto de referência está '*downstream*' a este ponto (OMICS INTERNATIONAL, 2019).

Figura 1 – Proteínas codificadas pelo HCV.



Fonte: (Adaptado de ASHFAQ *et al.*, 2011). O HCV é formado por um envelope viral que abriga seu RNA viral simples fita de polaridade positiva. O genoma contém uma fase de leitura aberta que codifica para a poliproteína precursora que dá origem a 10 proteínas diferentes, estruturais e não estruturais.

4.2 Proteínas estruturais

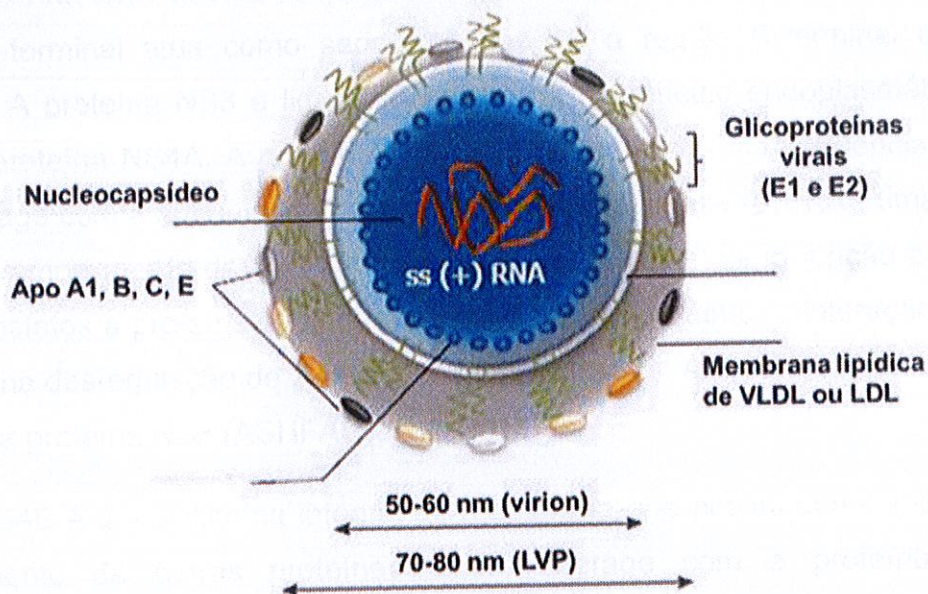
As proteínas estruturais codificadas pelo HCV são as glicoproteínas do envelope (E1 e E2) e do nucleocapsídeo (core) (figura 2) (ARGENTINI *et al.*, 2009).

A região que codifica para a proteína core é altamente conservada e faz parte do nucleocapsídeo viral. Trata-se de uma proteína citosólica ligada à membrana encontrada associada ao retículo endoplasmático, lipídeos, mitocôndrias e núcleo. A proteína core interage com numerosas proteínas celulares e afeta as funções celulares do hospedeiro, como transcrição gênica, metabolismo lipídico, apoptose,

assim como várias vias de sinalização e está associada diretamente ou indiretamente na hepatocarcinogênese e esteatose hepática (ASHFAQ *et al.*, 2011).

As proteínas do envelope são constituídas por duas proteínas glicosiladas, E1 e E2, e possuem um papel importante na invasão celular. A subunidade E1 tem como função a fusão na célula hospedeira e a glicoproteína E2 atua como subunidade de ligação ao receptor do HCV (ASHFAQ *et al.*, 2011).

Figura 2 - Modelo da partícula viral do HCV



Fonte: (MOROZOV; LAGAYE, 2018). O HCV é formado por uma RNA viral simples fita de polaridade positiva, abrigado por um nucleocapsídeo. As glicoproteínas virais, E1 e E2, encontram-se parcialmente inseridas na membrana lipídica, esta formada por lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL). Contem em sua membrana as apolipoproteínas A1, B, C e E.

4.3 Proteínas não estruturais

As proteínas não estruturais codificadas pelo HCV são: NS1 (P7), NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B (ASHFAQ *et al.*, 2011).

O HCV codifica a proteína P7 (NS1), localizada entre os genes E2 e NS2, que atua como canal iônico e possui importante função na infecção viral; trata-se de uma proteína essencial para a montagem de partículas virais e liberação dos virions infecciosos (ASHFAQ *et al.*, 2011).

NS2 é uma proteína transmembrana essencial para o término do ciclo da replicação viral tanto *in vivo* como *in vitro*. Já a NS3 é uma proteína multifuncional; a região N-terminal atua como serina protease e a região C-terminal atua como helicase. A proteína NS3 é ligada à membrana do retículo endoplasmático, assim como à proteína NS4A. A proteína NS3 também contém uma sequência consenso que interage com a subunidade catalítica da proteína kinase A (PKA); uma interação que interrompe a entrada da PKA no núcleo. A PKA tem como função a adição de grupos fosfatos a proteínas, alterando suas funções; portanto, a interação NS3/PKA acarreta na desregulação de sinalizações intracelulares. A proteína NS4A atua como cofator da proteína NS3 (ASHFAQ *et al.*, 2011).

NS4B é uma proteína integral de membrana que possui papel importante no recrutamento de outras proteínas virais; interage com a proteína NS4A e indiretamente com as proteínas NS3 e NS5A (ASHFAQ *et al.*, 2011).

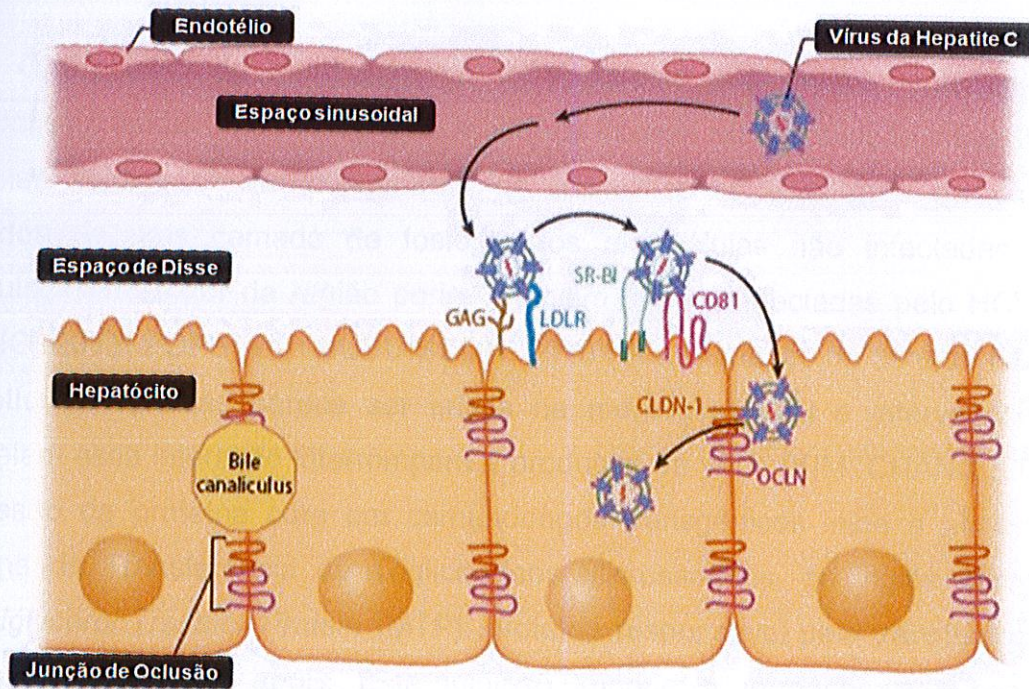
A proteína NS5A possui papel importante na replicação viral, modulação da sinalização intracelular e resposta contra interferon (ASHFAQ *et al.*, 2011). Uma região altamente conservada da proteína na região C-terminal mostrou-se ligar aos domínios SH3 do domínio Grb2, amplamente distribuídos entre proteínas de sinalização (TAN *et al.*, 1999 *apud* MACDONALD *et al.*, 2004). Já a proteína NS5B atua como RNA polimerase, com importante atuação na síntese de novas moléculas de RNA viral (ASHFAQ *et al.*, 2011).

4.4 Replicação viral

A entrada do vírus na célula hospedeira envolve uma complexa série de eventos que incluem: adsorção, penetração e fusão. A adsorção inicial do vírus ao receptor/co-receptor pode envolver a região hipervariável 1 (HVR1) da proteína E2 do vírus, facilitado por proteoglicanos de sulfato de heparanas expressos na superfície dos hepatócitos. Enquanto os receptores de LDL (LDLR) se ligam ao HCV e promovem sua entrada, a interação HCV-LDLR pode ser não produtiva e levar à degradação da partícula viral. Após ligação com fatores que promovam sua entrada, o HCV é internalizado nas células-alvo através de endocitose dependente de pH e mediado por clatrina (KIM; CHANG, 2013).

Diversos receptores celulares e fatores de entrada viral do HCV foram identificados, incluindo: *scavenger receptor class B* (SRB1), CD81, assim como proteínas de junção de oclusão, claudina 1 (CLDN1) e ocludina (OCLN) (figura 3). Outros fatores de entrada recentemente identificados incluem o receptor de tirosina-quinases (RTK), o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), o receptor de efrina A2 (EphA2) e o receptor de absorção de colesterol Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1) (KIM; CHANG, 2013).

Figura 3 - Esquema da entrada do HCV no hepatócito.



Fonte: (Adaptado de RICE, 2011). A imagem mostra alguns dos receptores e fatores de entrada viral do HCV nos hepatócitos. GAGs indicam as glicosaminoglicanas; LDLR, receptor de lipoproteína de baixa densidade; SR-B1, *scavenger receptor type B1*; CLDN-1, claudina-1; OCLN, ocludina.

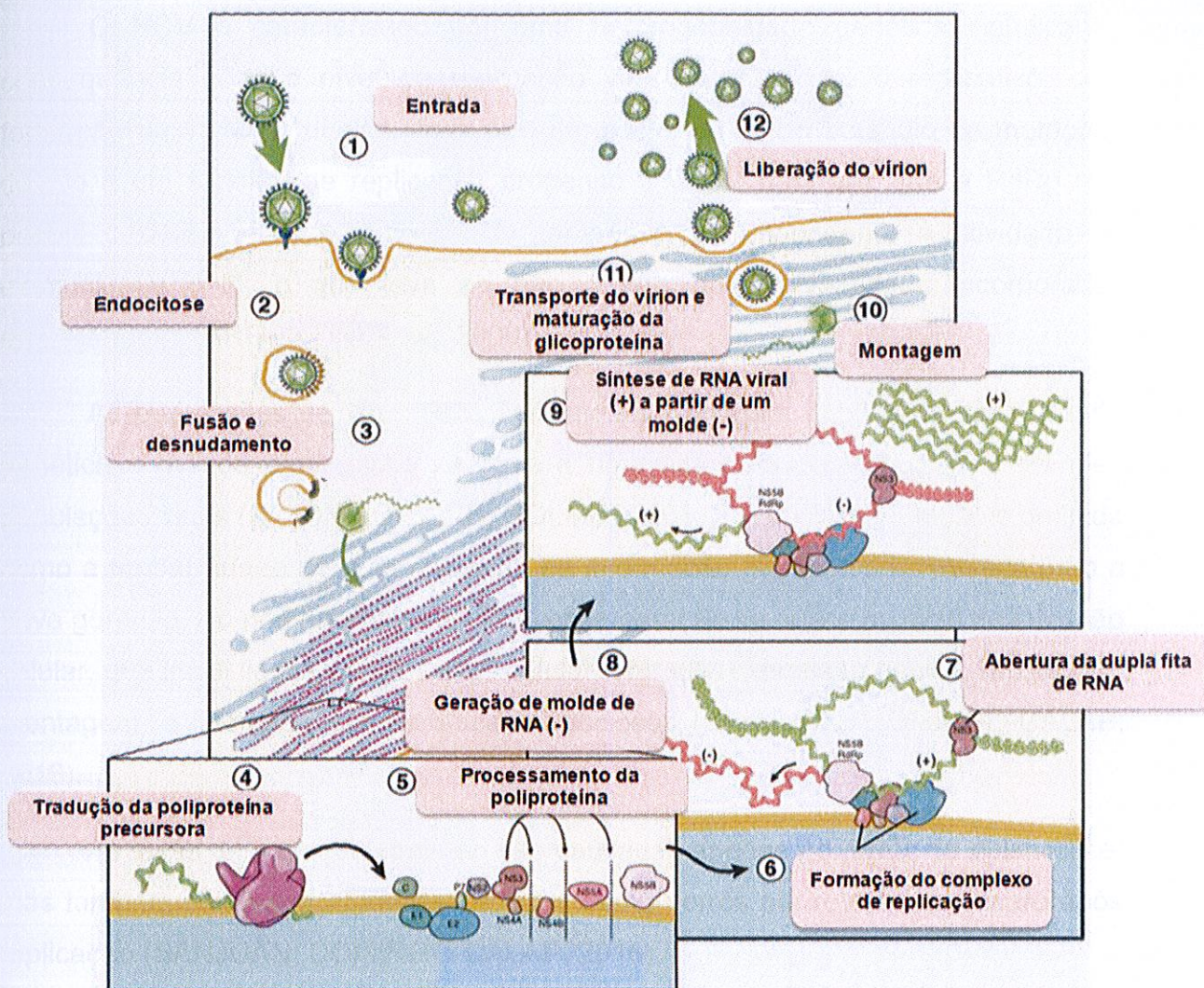
Após entrada do vírus no hepatócito, o genoma de RNA viral é liberado no citoplasma (figura 4); a poliproteína do HCV é traduzida no retículo endoplasmático rugoso (RER) com o RNA de fita positiva como molde. A tradução das proteínas é feita via IRES, do inglês *Internal Ribossomal Entry Site*, na extremidade 5' UTR e dá origem a uma poliproteína precursora de aproximadamente 3000 aminoácidos; posteriormente é processada por proteases celulares e virais (NS2, NS3/4A) gerando 10 tipos de proteínas virais, incluindo as proteínas estruturais e não estruturais. Foi visto que no decorrer das etapas de processamento da poliproteína, as proteínas virais aparecem associadas a uma rede membranosa, que inclui vesículas de membrana dupla, contendo as proteínas e RNA do HCV, membranas do RE e gotículas lipídicas. A replicação do RNA viral aparentemente ocorre nessas redes membranosas, com o RNA de polaridade positiva como molde para que a RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) de NS5B gere o RNA de polaridade

negativa para posteriormente gerar genomas de polaridade positiva (KIM; CHANG, 2013).

O processo de montagem do HCV parece estar intimamente ligado ao metabolismo lipídico, que induz uma mudança intensa na distribuição intracelular de gotículas lipídicas - armazenamento de triacilgliceróis e ésteres de colesterol cercados de uma camada de fosfolipídeos em células não infectadas - para acumulação ao redor da região perinuclear em células infectadas pelo HCV (KIM; CHANG, 2013; POPESCU; DUBUISSON, 2010). A associação do core do HCV com as gotículas lipídicas parece ser crítica na montagem viral e intervenções que bloqueiam essa interação interrompem a produção do vírus (KIM; CHANG, 2013). A expressão da proteína core em camundongos transgênicos inibe a atividade da proteína de Transferência de Triglicerídeos Microsossomais, do inglês *Microsomal Triacylglycerol Transfer Protein* (MTP), proteína responsável pela transferência dos triacilgliceróis para a apoB. Esta inibição impede a formação e subsequente secreção de lipoproteína de muito baixa densidade, do inglês, *very low density lipoprotein* (VLDL) (POPESCU; DUBUISSON, 2010; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2013). A associação entre as gotículas de lipídeos e a proteína core do HCV é uma peculiaridade observada apenas no genoma dos *Hepacivirus* da família *Flaviviridae* e tem fundamental importância no recrutamento de outras proteínas virais e consequente formação do vírion. Isso ocorre devido a um domínio denominado D2 presente na proteína core, que permite a associação da core com gotículas de lipídeos, levando ao recrutamento da proteína NS5A através de interações diretas (MASAKI *et al.*, 2008; POPESCU; DUBUISSON, 2010). O complexo NS5A-core é importante para associação da proteína core com o RNA viral (MASAKI *et al.*, 2008).

Presume-se que todas as proteínas virais desempenhem um papel fundamental no processo de montagem viral, centrando-se em torno das gotículas lipídicas onde a montagem é desencadeada na rede membranosa e rica em lipídeos pelas proteínas do HCV (core / E1 / E2 / p7 / NS2) e o complexo de replicação (KIM; CHANG, 2013).

Figura 4 - Ciclo replicativo do HCV.



Fonte: (Adaptado de PAWLITSKY; CHEVALIEZ; MCHUTCHISON, 2007). Representação esquemática do ciclo viral do HCV. (1) Ligaçãõ do víriõ aos receptores/fatores de entrada viral; (2) Internalizaçãõ por endocitose dependente de pH e mediado por clatrina; (3) Fusãõ e desnudamento da partícula viral; (4) A poliproteína precursora é traduzida no retículo endoplasmático rugoso (RER); (5) Proteases celulares e virais realizam o processamento da poliproteína, gerando 10 proteínas, estruturais e não estruturais; (6) Formaçãõ do complexo de replicaçãõ, composto por proteínas virais, componentes celulares e cadeias de RNA geradas; (7) Abertura da dupla fita de DNA. A fita simples de RNA se dobra para formar dupla fita, pois, para reconhecimento da RdRp NS5B, é necessário um iniciador (primer); (8) Síntese do RNA viral de polaridade negativa a partir de um molde de polaridade positiva; (9) O molde de polaridade negativa é utilizado como molde para gerar genomas de polaridade positiva; (10) Montagem viral ocorre em redes membranosas; (11) Maturaçãõ da glicoproteína e transporte do víriõ; (12) Liberaçãõ do víriõ do hepatócito.

4.5 Hipervariabilidade Genética

O HCV é caracterizado por uma heterogeneidade genética significativa, consequência do alto nível de replicação viral durante o ciclo replicativo, com formação de 1012 partículas virais por dia; assim como do acúmulo de mutações devido a um sistema de replicação propenso a erros, uma vez que a RdRp não possui o domínio de maquinaria de reparação correspondente à atividade de exonuclease 5'-3', o que leva ao não reparo dos nucleotídeos incorporados erroneamente (ARGENTINI *et al.*, 2009).

As populações de vírus RNA normalmente abrigam abundante variabilidade genética e grande parte disso se deve a uma alta taxa de mutações e grandes populações virais (SIMON-LORIERE; HOLMES, 2011). A taxa de mutação é definida como a probabilidade de uma alteração da informação genética ser passada para a nova geração. Ao nos referirmos a vírus, essa geração se refere ao ciclo de infecção celular, que inclui ligação à superfície celular, entrada, expressão gênica, replicação, montagem, e liberação das partículas infecciosas (SANJUÁN; DOMINGO-CALAP, 2016).

As taxas de mutação viral não são causadas apenas por erros da polimerase, mas também pela capacidade de um vírus corrigir erros por revisão ou reparo após replicação (SANJUÁN; DOMINGO-CALAP, 2016).

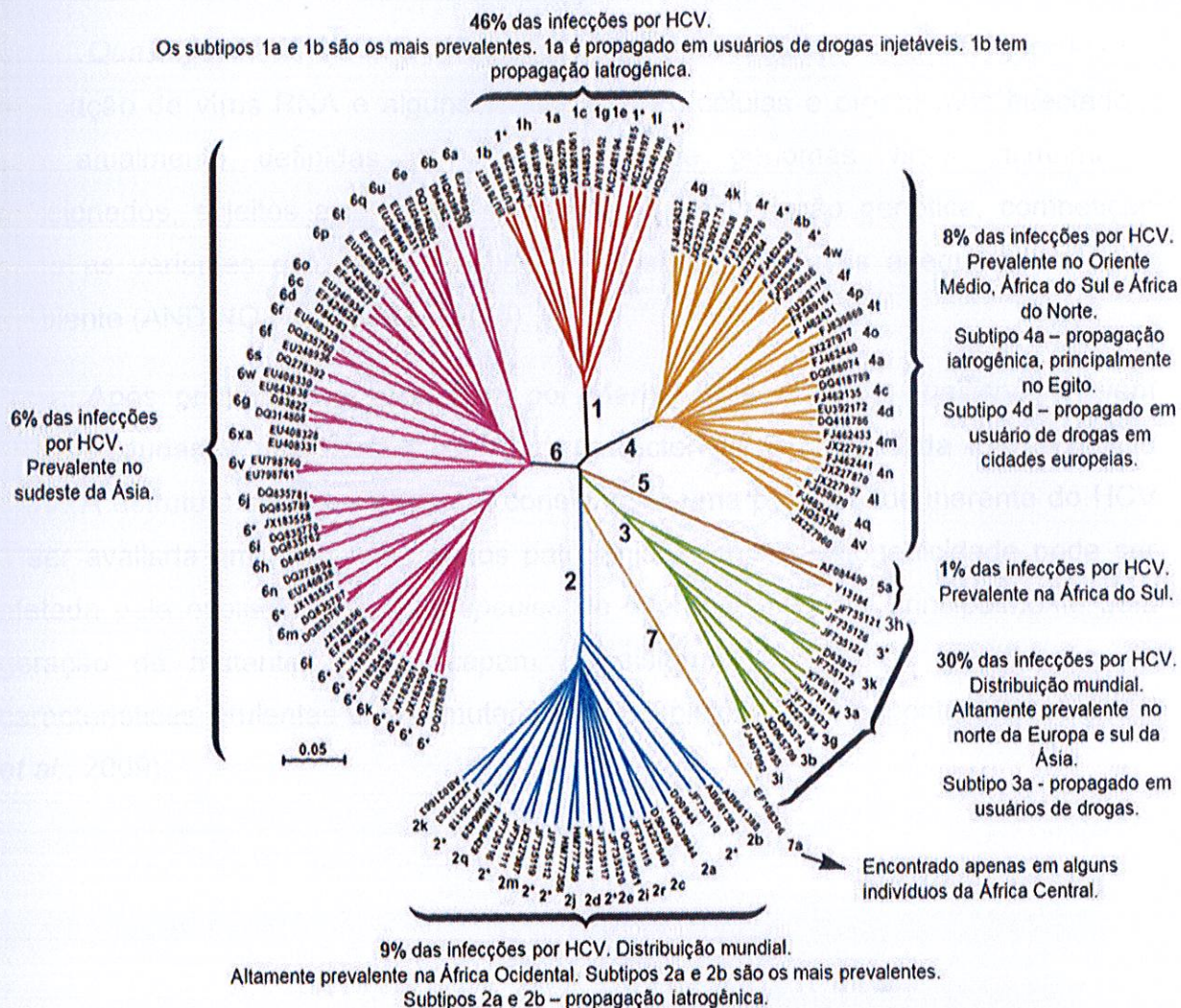
Os vírus RNA de fita simples (ssRNA) tendem a sofrer mutações mais rapidamente que os vírus de fita dupla (dsRNA), cuja causa não está totalmente elucidada. Uma possível explicação para esta constatação é que os ácidos nucleicos dos ssRNA são mais suscetíveis à desaminação oxidativa e também a outros tipos de danos químicos (SANJUÁN; DOMINGO-CALAP, 2016).

4.5.1 Genótipos e Subtipos

Desde a descoberta do HCV no fim de 1980, 7 genótipos foram apontados (figura 5). O último foi reportado por Murphy *et al.* em 2015, originado na África. Esses genótipos são subdivididos em diversos subtipos que diferem em nível de nucleotídeos entre 15% a 25%; enquanto os genótipos diferem em $\geq 30\%$. Os genótipos do HCV possuem uma ampla distribuição geográfica e revela uma alta variabilidade genética (MURPHY *et al.*, 2015).

A maior variabilidade do genoma do HCV concentra-se em regiões que codificam para as proteínas E1 e E2, enquanto que as sequências que codificam para as proteínas não estruturais são mais conservadas (SIMMONDS, 2004).

Figura 5 - Árvore filogenética do HCV.



Fonte: (Adaptado de BUKH, 2016). Classificação do HCV em 7 genótipos e uma ampla gama de subtipos. A árvore é baseada em análises feitas das sequências de fase de leitura aberta. A imagem indica a prevalência e distribuição de cada genótipo.

4.5.2 Quasispecies

Quasispecies virais são distribuições de vírus mutantes que são gerados na replicação de vírus RNA e alguns vírus DNA em células e organismos infectados; são atualmente definidas como coleções de genomas virais intimamente relacionados, sujeitos a um processo contínuo de variação genética, competição entre as variantes geradas e seleção das distribuições mais adequadas em um ambiente (ANDINO; DOMINGO, 2015).

Após primeira descrição feita por Martell *et al.* (1992), *quasispecies* vêm sendo estudadas para entendimento de características clínicas da infecção pelo HCV. A estrutura de *quasispecies* é considerada uma propriedade inerente do HCV a ser avaliada em todos os estudos patogênicos, pois a patogenicidade pode ser afetada pela evolução das *quasispecies* de diferentes modos, principalmente pela geração de mutantes que escapam do sistema imune pela modificação de características virulentas e pela mutação da complexidade do espectro (ARGENTINI *et al.*, 2009).

5 EPIDEMIOLOGIA

5.1 Hepatites Virais

As hepatites virais são responsáveis por cerca de 1,4 milhão de óbitos no mundo anualmente, acarretando em complicações graves ao fígado, como cirrose e hepatocarcinoma (BRASIL, 2017).

Cinco vírus são responsáveis pela maior parte de hepatites virais, sendo: Vírus da Hepatite A (HAV), Vírus da Hepatite B (HBV), Vírus da Hepatite C (HCV), Vírus da Hepatite D (HDV) e Vírus da Hepatite E (HEV). Destes, HBV e HCV são responsáveis por 96% da mortalidade causadas por hepatites virais, mundialmente (WHO, 2017).

5.2 Hepatite C no mundo

Diversos estudos sugerem que a incidência da infecção por HCV diminuiu desde a segunda metade do século 20. Entretanto, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) (2017), estimativas obtidas através de modelagem sugerem que mundialmente, em 2015, ainda havia 1,75 milhões de novas infecções por HCV.

As áreas com maiores taxas infecção são localizadas na região do Mediterrâneo Oriental (62,5 por 100.000) e a região Europeia (61,8 por 100.000). Entretanto, mesmo em regiões do mundo em que a incidência era baixa em 2015, um aumento da transmissão pode ocorrer a qualquer momento. Nos Estados Unidos da América, por exemplo, após diversos anos de decréscimo, a incidência da infecção por HCV dobrou entre os anos de 2010 e 2014 (WHO, 2017).

5.3 Hepatite C no Brasil

Foram notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), no período de 1999 a 2017, 587.821 casos confirmados de hepatites virais

no Brasil. Destes, a maior parte, com 218.257 (37,1%) são associados ao HBV, em segundo lugar, 200.839 (34,2%) casos de HCV, depois 164.892 (28%) de HAV e, por fim, 3.833 (0,7%) de HDV (BRASIL, 2018).

Dados do Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais (2018) revelam que, no Brasil, óbitos por HCV representam atualmente a maior causa de morte entre hepatites virais. Além disso, dados deste mesmo boletim evidenciam que o número de óbitos vem aumentando entre 2000 a 2016. Neste período, foram identificados 50.179 óbitos relacionados ao HCV.

6 IMUNOLOGIA DO HCV

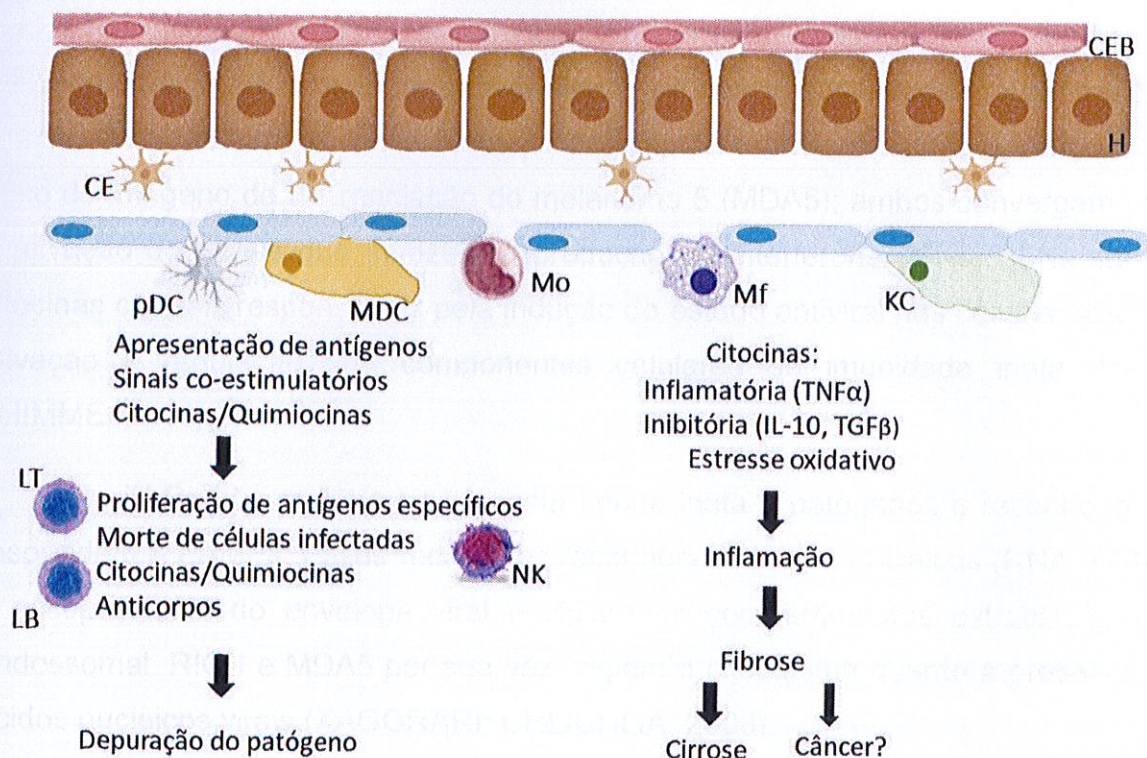
6.1 Imunidade Inata e Adaptativa

Durante a replicação viral do HCV, ocorre o reconhecimento de antígenos por receptores de reconhecimento de patógenos, do inglês *pathogen recognition receptors* (PRRs) na célula hospedeira, que identifica e se liga a padrões associados a patógenos, do inglês, *pathogen associated pattern* (PAMP) o que leva à ativação de células do sistema imune inato e adaptativo. Participam da resposta imune contra infecção por HCV: hepatócitos, *Kupffer*, células dendríticas, *natural killer* (NK), entre outras células do sistema imune (HORNER; GALE, 2013).

Como se sabe, a imunidade inata é caracterizada por apresentar uma resposta rápida à agressão, independentemente de estímulo prévio, sendo então, a primeira linha de defesa do organismo. Seus mecanismos compreendem barreiras físicas, químicas e biológicas, componentes celulares e moléculas solúveis. Por isso, caracteriza-se por diversas etapas intimamente integradas e constituídas pelos diferentes componentes desse sistema (MEDZHITOV; JANEWAY, 2000).

Os leucócitos são considerados efetores e reguladores da inflamação, pois apresentam capacidade de absorver patógenos, produzir citocinas pró e anti-inflamatórias além de produzir radicais reativos de oxigênio acarretando no início da manutenção da inflamação tecidual (figura 6) (SZABO; DOLGANIUC, 2008).

Figura 6 – Inflamação tecidual na infecção pelo HCV.



Fonte: (Adaptado de SZABO; DOLGANIUC, 2008). Com a função de revestir os hepatócitos (H), encontramos as células esteladas (CE) e as células endoteliais biliares (CEB). Além disso, monócitos (Mo), macrófagos (Mf), células dendríticas plasmocitóides (pDC) e mielóides (MDC) e células de Kupffer (KC) são encontradas próximas das células endoteliais. Quando estas células entram em contato com o patógeno, sendo por meio da corrente sanguínea ou hepatócitos infectados, as pDCs e MDC são responsáveis por criar um ambiente favorável para a apresentação dos antígenos por meio da produção de citocinas e disponibilizar moléculas co-estimulatórias e consequentemente a apresentação dos antígenos virais. Linfócitos T e B, células NK reagem com a proliferação específica de antígeno, citotoxicidade e produção de anticorpos ou citocinas. O reconhecimento direto dos patógenos e a inflamação crônica, ativam as CE, que produzem colágeno e favorece o desenvolvimento de fibrose hepática em estágios mais avançados da doença, podendo também levar ao desenvolvimento de carcinoma hepatocelular (SZABO; DOLGANIUC, 2008).

A infecção viral é reconhecida pelo sistema imune após o processo de degradação do vírus no interior dos endossomos e consequente exposição de ácidos nucleicos que podem ser reconhecidos por receptores *toll-like*, do inglês, *toll-like receptors* (TLR), e também através da via citosólica, desencadeada por meio da ligação do RNA viral ao gene indutível pelo ácido retinóico (RIG-I) e também por meio do antígeno de diferenciação do melanoma 5 (MDA5); ambos convergem para a ativação de genes que induzem a produção de interferons (IFNs). IFNs são as citocinas centrais responsáveis pela indução do estado antiviral nas células, além da ativação e regulação dos componentes celulares de imunidade inata (HEIM; THIMME, 2014).

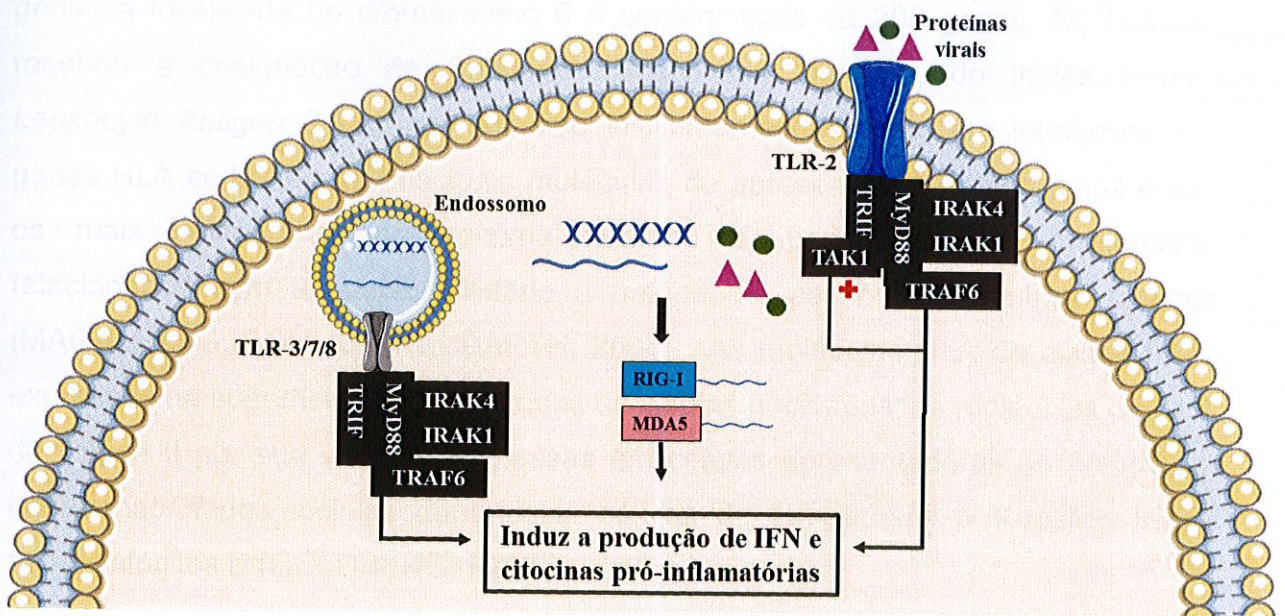
Os TLRs são cruciais na resposta imune inata a patógenos e reconhecem e respondem à PAMPs. Esses receptores reconhecem ácidos nucleicos (RNA e DNA) e glicoproteínas do envelope viral e vigiam os compartimentos extracelulares e endossomal. RIG-I e MDA5 por sua vez, vigiam o citoplasma quanto à presença de ácidos nucleicos virais (XAGORARI; CHLICHLIA, 2008).

Quatro tipos de TLRs têm papel fundamental no reconhecimento de ácidos nucleicos virais: TLR3, TLR7, TLR8 e TLR9. Além destes, dois tipos de TLRs reconhecem glicoproteínas virais, TLR2 e TLR4. Estes receptores detectam vírus que adentram a célula por endocitose, induzindo a produção de diversas proteínas que levam à ativação dos fatores de transcrição NF- κ B, IRF3 e IRF7 (XAGORARI; CHLICHLIA, 2008). A sinalização TLR é mediada pelos adaptadores fator de diferenciação mieloide 88, do inglês *myeloid differentiation primary response 88* (MyD88), TIRAP/Mal, do inglês *TIR-domain containing adapter protein/MyD88 adapter-like* e a molécula adaptadora TRIF, do inglês *toll-interleukin 1 receptor-domain-containing adapter-inducing interferon- β* . A associação inicial de MyD88 ao receptor leva ao recrutamento e ativação sequencial de quinases associadas ao receptor de interleucina-1 do tipo 4 (IRAK4) e do tipo 1 (IRAK1), do inglês *interleukin receptor-associated kinases*. A IRAK1 ativada então se liga ao fator associado ao receptor do fator de necrose tumoral do tipo 6 (TRAF6), do inglês *tumor necrosis factor receptor-associated factor*, após o qual o complexo se dissocia do receptor para outros eventos de sinalização incluindo a ativação do mediador TAK1, do inglês *transforming growth factor β -activated kinase 1*. A TAK1 pode ativar o NF- κ B e AP1 para estimular a produção de citocinas pró-inflamatórias. IRAK1 e TRAF6 também

podem ativar IRF7 para induzir a expressão de interferons do tipo I (figura 7) (IFNs) (YAMAMOTO *et al.*, 2003; LU; YEH; OHASHI, 2008 *apud* LEE *et al.*, 2015).

Muitas evidências mostram que os componentes do HCV podem ligar-se a TLRs e ativar a sua via de sinalização ou bloquear a função do receptor, interferindo com intermediários intracelulares (XAGORARI; CHLICHLIA, 2008). Estudos com linhagens de macrófagos de camundongos que expressavam as proteínas não estruturais do HCV mostraram inibição das vias de sinalização de TLR2, TLR4, TLR7 e TLR9 (ABE *et al.*, 2007 *apud* XAGORARI; CHLICHLIA, 2008).

Fig. 7 - Reconhecimento do HCV pelo hospedeiro.



Fonte: Adaptado de (CHAN; OU, 2017). Após a infecção, o RNA viral, assim como outros produtos do vírus, podem ativar RIG-I, MDA5 e TLRs para ativação de vias de sinalização para a produção de IFNs e citocinas pró-inflamatórias.

As células NK, que constituem cerca de 30% dos linfócitos do fígado, são extremamente importantes na resposta imune contra o HCV (AHLENSTIEL, 2011 *apud* OLIVEIRA, 2015). Estas células exercem função através de citotoxicidade e produção de citocinas como IFN- γ , fator de necrose tumoral (TNF) e fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF), que ativam tanto células do sistema imune inato quanto adaptativo (CAMPBELL; PURDY, 2011). Células NK são capazes de reconhecer e eliminar os hepatócitos infectados, gerando corpos apoptóticos contendo antígenos do vírus que posteriormente são reconhecidos por células apresentadoras de antígenos (APC) e apresentados às células do sistema imune adaptativo, TCD4⁺ e TCD8⁺ via complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe I e II (AHLENSTIEL, 2011 *apud* OLIVEIRA, 2015). O Complexo Principal de Histocompatibilidade, do inglês *Major Histocompatibility Complex* (MHC), humano tem grande parte de sua codificação genética localizada no cromossomo 6 e contém mais de 200 genes. No homem, recebeu a designação de Antígeno Leucocitário Humano, do inglês *Human Leukocyte Antigen* (HLA), por ter sido inicialmente detectado em leucócitos. Os genes HLA codificam as principais moléculas de apresentação de antígenos e são os mais polimórficos do genoma humano e, portanto, estão diretamente relacionados com a susceptibilidade a patógenos, assim como outras doenças (MAGALHÃES; BÖHLKE; NEUBARTH, 2004). As moléculas HLA de classe I são expressas na superfície celular de todas as células nucleadas; as moléculas de HLA de classe II por sua vez são expressas em células apresentadoras de antígenos, como macrófagos, células dendríticas, células de Langerhans e Kuppfer, assim como linfócitos B (GOLDBERG; RIZZO, 2015).

As células dendríticas (DCs), provenientes de precursores mielóides ou linfóides de células pluripotentes da medula óssea, são classificadas como: células dendríticas mielóides (MDC) que apresentam grupamento de diferenciação, do inglês, *clusters of differentiation* (CD) CD1a, CD11c, CD13, CD14, CD33⁺, enquanto as linfóides, também chamadas células dendríticas plasmocitóides (pDCs) expressam CD123 e BDCA-2 em sua superfície. Ambas podem ser encontradas no sangue periférico quando estão em estágio imaturo. Células dendríticas imaturas (iDC) expressam baixos níveis de MHC de classe I e II e moléculas co-estimulatórias em sua superfície, sendo eficazes em realizar endocitose e promover o

processamento de antígenos. Sua maturação ocorre após a detecção de antígenos microbianos, antígenos próprios, ou por meio de contato com citocinas pró-inflamatórias, como fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina-1 (IL-1) ou após a interação entre o sistema ligante CD40/CD40L (ZHOU *et al.*, 2012). Quando se tornam células maduras, são capazes de atuar na apresentação dos antígenos virais aos linfócitos T (LT) *naive*, no interior dos linfonodos, para que iniciem respostas T específicas, uma vez que pDCs são as principais produtoras de IFN- α e especializadas em detectar ácidos nucleicos virais por meio de sua expressão de receptores *toll-like*, como TLR7 e TLR9 (SZABO; DOLGANIUC, 2008).

Os linfócitos B e T provenientes de células-tronco pluripotentes da medula óssea são células que compõem o sistema imune adaptativo (JÚNIOR *et al.*, 2010). Durante a infecção aguda pelo HCV, a resposta imune por células T ocorre tardiamente. As células T específicas para este vírus não podem ser detectadas no sangue e no fígado até 8 a 12 semanas após a infecção, apesar de haver um aumento precoce nos títulos de HCV e indução precoce de resposta de IFN do tipo I e III (THIMME *et al.*, 2002; SHIN *et al.*, 2011 *apud* SHIN; SUNG; PARK, 2016).

Os linfócitos T reconhecem apenas antígenos apresentados via moléculas de MHC expressas na superfície de uma célula apresentadora de antígeno. O receptor de células T, do inglês *T-cell-receptor* (TCR), é expresso na membrana das células T em associação com um complexo denominado CD3; o TCR é responsável pelo reconhecimento do complexo peptídico-molécula de MHC, e CD3 pela sinalização celular subsequente. As moléculas de MHC de classe I interagem com a molécula CD8 e as moléculas de MHC de classe II interagem com CD4 (COICO, 2010).

Respostas de células TCD4⁺ são observadas na maioria dos pacientes com infecção aguda, no entanto, em pacientes com infecção persistente, a proliferação de células TCD4⁺ está diminuída, assim como a produção de IL-2 (SEMMO *et al.*, 2005; ZUR WIESCH *et al.*, 2012 *apud* SHIN; SUNG; PARK, 2016).

As células T CD8⁺ são conhecidas por serem células essenciais no controle de infecções virais via atividade citolítica (mediada por perforina) e por secreção de citocinas (que não requer a destruição de células infectadas) (figura 8A); a importância da atividade citolítica na infecção por HCV é evidenciada pelo fato de as respostas por células T CD8⁺ coincidirem não apenas com a diminuição de títulos de

RNA viral na corrente sanguínea de indivíduos infectados, mas também devido ao pico de alanina aminotransferase sérica (ALT) nestes indivíduos, um marcador importante de lesões hepáticas, uma vez que a via citolítica leva à destruição de células infectadas (THIMME *et al.*, 2001; MAJOR *et al.*, 2004; KLENERMAN; THIMME, 2011 *apud* SUNG; RACANELLI; SHIN, 2014). O IFN- γ secretado por células T CD8⁺ também exerce ações antivirais, pois, durante a infecção aguda, o primeiro declínio do RNA viral do HCV está correlacionado com o início da produção de IFN- γ por células T CD8⁺ específicas em humanos (THIMME *et al.*, 2002 *apud* JO *et al.*, 2009).

Na infecção aguda pelo HCV, os linfócitos T apresentam papel importantíssimo na resolução ou persistência da infecção, como mostrou um estudo realizado com chimpanzés, onde foi observado que a diminuição *in vivo* de células TCD4⁺ ou CD8⁺ dificulta a depuração do HCV e a recuperação clínica (SHOUKRY *et al.*, 2003; GRAKOU, 2003).

A importância das células T CD8⁺ na infecção pelo HCV também é apoiada por estudos imunogenéticos, como as de McKiernan *et al.* (2004) e Kim *et al.* (2011) que mostraram que haveria uma associação entre alótipos de HLA de classe I e um resultado clínico positivo em indivíduos com a infecção. Os alótipos HLA-B27, HLA-B57 e HLA-A3 mostraram-se associados com uma alta taxa de depuração espontânea na depuração do HCV (SUNG; RACANELLI; SHIN, 2014). As células T CD4⁺ também possuem papel importante na resolução espontânea da infecção aguda pelo HCV, pois, assim como as moléculas de HLA pertencentes à classe I, alótipos da classe II também foram associados à depuração viral do HCV (PEANO *et al.*, 1994; TIBBS *et al.*, 1996; ZAVAGLIA *et al.*, 1996; GODKIN; THOMAS; OPENSHAW, 2002; MCKIERNAN *et al.*, 2004).

Além da resposta celular, indivíduos infectados pelo HCV produzem anticorpos neutralizantes contra proteínas estruturais e não estruturais, como anticorpos específicos para as proteínas E1 e E2 do envelope viral. No entanto, anticorpos específicos para as glicoproteínas E1 ou E2 tendem a perder facilmente sua atividade neutralizadora devido a mutações virais. Além disso, a transmissão direta célula a célula do HCV pode ajudar o vírus a escapar da detecção por anticorpos neutralizantes (DOWD *et al.*, 2009; SHIN; SUNG; PARK, 2016).

6.2 Mecanismos de evasão do Sistema Imune

A infecção pelo HCV gera uma série de eventos intracelulares que culminam na geração de um estado antiviral na célula infectada e em células não infectadas (GALE JR; FOY, 2005). Para replicar-se e disseminar-se efetivamente, o HCV direciona várias estratégias para fugir da defesa do hospedeiro, resultando em hepatite crônica na maioria dos pacientes. Na tentativa de relacionar a falha na resposta imune do hospedeiro e a persistência viral pelo HCV, foram propostos alguns mecanismos de evasão: mutações em regiões imunogênicas, exaustão de linfócitos T efetores, deficiência na apresentação de antígenos, supressão de resposta por proteínas virais, irregularidades na maturação de linfócitos T e supressão da resposta imune por células T reguladoras (Treg) (figura 8B) (DUSTIN; CASHMAN; LAIDLAW, 2014; SPAAN *et al.*, 2012 *apud* OLIVEIRA 2015).

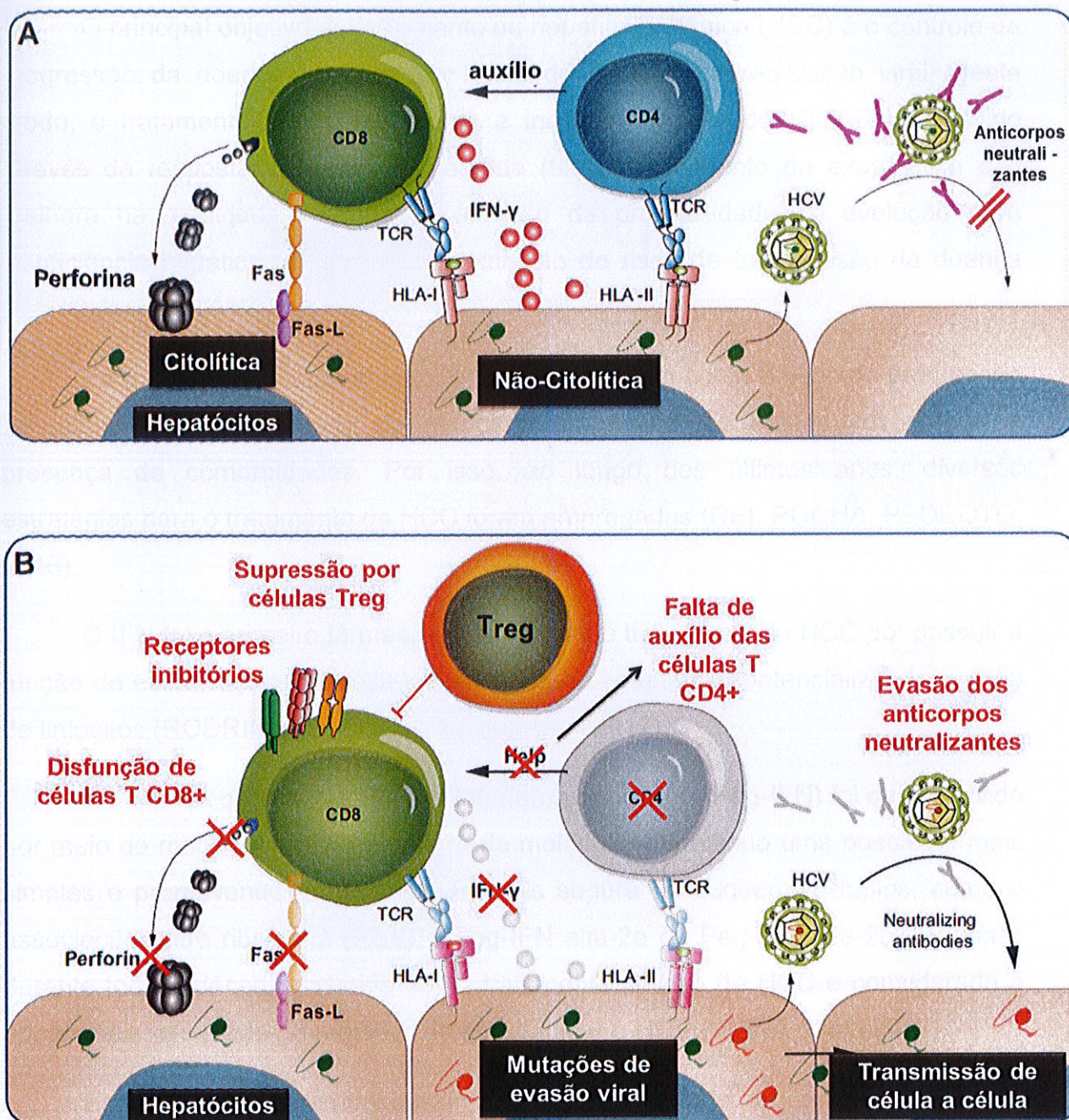
Com a evolução de *quasispecies* virais, ocorrem mutações em epítomos alvos de células do sistema imune, um dos fatores do fracasso da resposta de linfócitos T específicos. Porém, o fator principal na diminuição da resposta destas células é a exaustão das células T, causada pela estimulação antigênica crônica pelo HCV. Na infecção crônica, células TCD4⁺ perdem a capacidade de produção de citocinas e capacidade proliferativa, assim como as células TCD8⁺, que reduzem sua capacidade de citotoxicidade (WIELAND; HOFMANN; THIMME, 2017). A exposição prolongada a antígenos é caracterizada por uma regulação positiva de receptores inibitórios em linfócitos T, incluindo a proteína 1 de morte celular programada (PD1), antígeno 4 de linfócitos T citotóxicos (CTLA4), receptor de célula semelhante à lectina *killer* G1 (KLRG1), CD160 e 2B4 (conhecido também como CD244), e por altos níveis de expressão de CD39, este último estando intimamente ligado a exaustão dos linfócitos T (SHIN; SUNG; PARK, 2016; GUPTA *et al.*, 2015). Em pacientes com infecção crônica, as células TCD8⁺ intra-hepáticas específicas do HCV são caracterizadas pela co-expressão de múltiplos receptores inibitórios (SHIN; SUNG; PARK, 2016).

Pesquisas realizadas com tecido de fígado humano infectado com HCV demonstrou a capacidade que o mesmo apresenta de interferir na indução de IFNs, através da ação da protease NS3-NS4A, que promove a clivagem de proteínas

mitocondriais de sinalização antiviral, do inglês *mitochondrial antiviral signalling protein* (MAVS), independente da sua localização subcelular, podendo ser encontrada em mitocôndrias, membranas do retículo endoplasmático associadas às mitocôndrias, do inglês *mitochondria-associated membranes* (MAMs) e nos peroxissomos. (SHIN; SUNG; PARK, 2016). A protease NS3/4A atua como antagonista na ativação do fator regulador de interferon 3 (IRF-3), fator importante na indução da resposta antiviral do interferon, e também na ativação e expressão de IFN- β , bloqueando a via de sinalização do receptor RIG-I e pela interrupção da via de sinalização TLR3, pela clivagem da proteína adaptadora TRIF (GALE JR; FOY, 2005).

Estudos sugerem que há um aumento de células Treg em indivíduos humanos e não humanos (primatas) na infecção por HCV. Em humanos, os títulos de Treg aumentam durante a infecção aguda e se mantêm durante a infecção crônica (BOETTLER *et al.*, 2005; SUGIMOTO *et al.*, 2003; BOLACCHI *et al.*, 2006; CABRERA *et al.*, 2004; PERRELLA *et al.*, 2006; ULSENHEIMER *et al.*, 2003; ALATRAKCHI *et al.*, 2007; EBINUMA *et al.*, 2008 *apud* DOLGANIUC; SZABO, 2008). A frequência aumentada de células Treg no início da infecção foi sugerida como condição para previsão da infecção crônica pelo HCV (BOYER *et al.*, 2004 *apud* DOLGANIUC; SZABO, 2008).

Figura 8 - Sucesso e fracasso do sistema imune adaptativo contra o HCV.



Fonte: (Adaptado de HEIM; THIMME, 2014). (A) Células T CD8⁺ podem inibir a replicação viral por mecanismos efetores citotóxicos (perforina) e não-citotóxicos (IFN- γ) com suporte de células T CD4⁺. Anticorpos neutralizantes podem bloquear o vírus e, conseqüentemente, impedir a infecção de outros hepatócitos. (B) Mecanismos diferentes pelos quais ocorrem o fracasso do sistema imune adaptativo.

7 TRATAMENTO PARA HEPATITE C

O principal objetivo do tratamento da hepatite C crônica (HCC) é o controle da progressão da doença hepática por meio da inibição da replicação viral. Deste modo, o tratamento tem como metas a indetectabilidade do HCV-RNA, medido através da resposta virológica sustentada (RVS), o aumento da expectativa e a melhora na qualidade de vida, a redução da probabilidade de evolução para insuficiência hepática terminal e a diminuição do risco de transmissão da doença (GARCIA *et al.*, 2012).

Para dar início ao tratamento, é preciso levar em conta o risco de progressão da doença, a probabilidade de resposta terapêutica, os efeitos adversos e a presença de comorbidades. Por isso, ao longo dos últimos anos, diversas estratégias para o tratamento da HCC foram empregadas (REI; ROCHA; PEDROTO, 2016).

O IFN foi o primeiro fármaco utilizado para o tratamento da HCC por possuir a função de estimulação direta da resposta imune adaptativa, potencializando a ação de linfócitos (RODRIGUES; AGUIAR; PEREIRA, 2017).

No final da década de 1990, o Interferon peguilado (Peg-IFN) foi desenvolvido por meio de modificações na estrutura da molécula, permitindo uma posologia mais simples e promovendo uma indicação mais segura de esquemas duplos, como a associação entre ribavirina (RBV) e Peg-IFN alfa-2a ou Peg-IFN alfa-2b, utilizadas durante toda a década passada como tratamento padrão de HCC e considerada a opção mais adequada na tentativa de se erradicar o HCV (VIANA *et al.*, 2017).

Estudos iniciais demonstraram nítida superioridade da terapia combinada sobre a monoterapia com IFN, tanto em pacientes sem de tratamento prévio como naqueles previamente tratados e não responsivos (RODRIGUES; AGUIAR; PEREIRA, 2017). Entretanto, durante o período de tratamento diversos efeitos colaterais foram observados, como alopecia, anemia, distúrbios autoimunes, depressão ou transtornos do humor, diarreia, sintomas semelhantes aos da gripe, dor ou eritema no local da injeção, retinopatia, transtornos do sono, trombocitopenia e neutropenia, disfunção da tireoide e perda de peso (MELLO, 2014; GARCIA *et al.*, 2012).

Em 2011, deu início a nova era no tratamento da hepatite C, com a utilização da terapia tripla de inibidores de protease NS3/4, de primeira geração, com o emprego dos dois primeiros fármacos telaprevir (TVR) e boceprevir (BOC) em pacientes monoinfectados, sem tratamento e previamente tratados, associado ao Peg-IFN e ribavirina (RODRIGUES; AGUIAR; PEREIRA, 2017). Pesquisas clínicas realizadas antes da comercialização dos fármacos mostrou um aumento promissor da chance de cura em relação à terapia dupla com Peg-INF e RBV. Porém, TVR e BOC foram retirados das diretrizes brasileiras dois anos após sua incorporação devido ao perfil de segurança duvidoso, elevado custo e pelas taxas de RVS, sob condições de vida real, inferiores àquelas observadas nas pesquisas pré-comercialização (BRASIL, 2017).

Segundo Ministério da Saúde (2017) no Brasil, os antivirais de ação direta (DAAs) disponíveis para o tratamento da HCC são (1) Daclatasvir (DCV), inibidor do complexo enzimático NS5A; (2) Simeprevir (SIM), inibidor de protease NS3/4A; (3) Sofosbuvir (SOF), um análogo de nucleotídeo que inibe a polimerase do HCV; (4) Associação entre os fármacos Ombitasvir, inibidor do complexo enzimático NS5A, Dasabuvir, inibidor não nucleosídico da polimerase NS5B, Veruprevir inibidor de protease NS3/4A, e Ritonavir um potencializador farmacocinético; (5) Associação entre Elbasvir, inibidor do complexo enzimático NS5A e Grazoprevir um inibidor de protease NS3/4A. Estes fármacos atuam interrompendo a replicação do HCV e apresentam vantagens como melhores resultados em comparação com tratamentos anteriormente indicados, com taxa de RVS >90%, menor tempo de tratamento, menos efeitos adversos, menor necessidade de exames de biologia molecular para avaliação do tratamento e facilidade posológica (BRASIL, 2017; PAWLITSKY, 2014; FALADE-NWULIA *et al.*, 2017 *apud* ROCHE *et al.*, 2018).

8 VACINA PROFILÁTICA

A vacinação é uma intervenção de saúde pública imensamente bem-sucedida que reduziu consideravelmente a carga de doenças infecciosas no mundo (WOODLAND, 2018). É uma das medidas preventivas mais importantes dos tempos modernos em escala mundial. Com os mais recentes avanços em ciência e tecnologia, hoje existem vacinas seguras e eficazes para muitas das doenças infecciosas mais comuns, como varíola, sarampo, coqueluche, gripe, hepatite A e B, catapora e difteria, e o uso de vacinas tem sido estimado para salvar milhões de vidas de crianças por ano (BONANNI, 1999 *apud* WANG *et al.*, 2017).

Em 1979 alcançou-se um grande marco para a saúde global: a varíola foi erradicada pela vacinação. A Campanha da Erradicação da Varíola (CEV) foi bem sucedida e recebeu certificação de desaparecimento da doença por Comissão da Organização Mundial da Saúde (OMS).

Em 1994, o Brasil recebeu a certificação de bloqueio de transmissão autóctone do poliovírus selvagem. O último caso da doença ocorreu em 1989, na Paraíba. O Brasil teve 2.564 casos de pólio notificados em 1979, caindo para 122 casos em 1981, devido a uma vigilância epidemiológica ativa e altas coberturas vacinais (BRASIL, 2003).

O desempenho do programa nacional de imunização (PNI) brasileiro contra o sarampo também foi bem sucedido. Em 1992, foi iniciado o Plano de Controle e Eliminação do Sarampo e implementada a vigilância epidemiológica em todo o país. Entre 25 de abril e 22 de maio ocorreu a vacinação de mais de 48 milhões de crianças entre 9 meses e 14 anos de idade, atingindo 96% da população alvo. Como consequência da implementação da imunização, de 45.778 casos registrados em 1990, em 1992 houveram 3.234 casos notificados (BRASIL, 2003). Em 2016, o Brasil recebeu da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS/OMS) o certificado de eliminação da circulação do vírus do sarampo, e, atualmente empreende esforços para mantê-lo. Em 2017, foram confirmados casos de sarampo em venezuelanos que adentraram no estado de Roraima, ocasionando em um surto da doença no estado e em 2018 este surto foi ampliado para o estado de Manaus (BRASIL, 2019). Em 2019, o Fundo Internacional de Emergência para a Infância das Nações Unidas

(UNICEF) alertou para uma alta dos níveis de infecção por sarampo em todo o mundo. Dentre os países com maior aumento de casos entre 2017 e 2018, o Brasil aparece em 3º lugar, atrás da Ucrânia e Filipinas. Em resposta a estes surtos, o governo brasileiro realizou uma campanha contra pólio e sarampo alcançando mais de 11 milhões de crianças menores de 5 anos (97,89% de cobertura).

O sucesso desses programas se deve ao fato de que as vacinas mais bem sucedidas são caracterizadas pela facilidade de produção, administração simples e longevidade da proteção. Embora as vacinas tenham levado ao controle de muitas doenças infecciosas, tem sido difícil produzir vacinas eficazes contra muitas outras (WOODLAND, 2018), incluindo o HCV.

Na última década, diversas abordagens de vacinas foram avaliadas em camundongos e primatas, porém, apenas uma pequena fração progrediu para ensaios clínicos em humanos (HALLIDAY; KLENERMAN; BARNES, 2011). Os motivos pelos quais pesquisadores encontraram muitas dificuldades no desenvolvimento de uma vacina são: (1) hipervariabilidade genética do vírus devido a mutações frequentes; (2) carência de animais de pequeno porte para o teste das vacinas, uma vez que os chimpanzés são a única espécie, além dos humanos, a serem suscetíveis ao HCV; existem restrições éticas, disponibilidade limitada e altos custos associados aos estudos com chimpanzés e, portanto, outros animais foram testados quanto sua susceptibilidade à infecção pelo HCV, porém, até o momento, nenhuma viremia foi demonstrada em macacos ou outros primatas além de chimpanzés (VERCAUTEREN; JONG; MEULEMAN, 2015); (3) criação de um sistema de cultura de células suscetível e permissivo a infecção pelo HCV para estudo *in vitro* do vírus ser relativamente recente (ZINGARETTI; FRANCESCO; ABRIGNANI, 2014).

Ainda que tenha ocorrido um declínio substancial na transmissão do HCV devido a melhores estratégias de prevenção e, introdução de novas terapias terapêuticas, a hepatite C permanece como um grande problema de saúde pública e existem diversas razões para continuar em busca de uma vacina profilática (ZINGARETTI; FRANCESCO; ABRIGNANI, 2014); aproximadamente 70% dos pacientes infectados desenvolverão a infecção crônica, independente de intervenções e cuidados médicos avançados. A hepatite C é uma doença silenciosa,

ou seja, levam-se anos para o aparecimento dos sintomas característicos da doença, postergando o diagnóstico e aumentando o risco de exposição ao vírus. Apesar das altas taxas de cura com as novas drogas antivirais de ação direta, um número considerável de pacientes não conseguem eliminar a infecção, tendo como fator importante ao insucesso do tratamento a resistência viral a essas drogas (PAWLOTSKY, 2016). Além disso, outros fatores que dificultam o tratamento da hepatite C são: alto-custo e recidiva da infecção. Estudo realizado por Iyengar *et al.* (2016) acerca de preços de alguns DAAs mais utilizados em 30 países concluiu que esses medicamentos são inacessíveis a nível mundial. Em regiões onde o tratamento não é subsidiado, é improvável que indivíduos infectados consigam realizar o tratamento. Outro fator importante é a recidiva da infecção. O sucesso do tratamento é definido como RVS 12-24 semanas após o término do tratamento. Porém, segundo Jakobsen *et al.* (2018) o uso da palavra "cura" é utilizado de forma inadequada, uma vez que alguns pacientes que alcançam RVS podem recair anos depois com vírus geneticamente idênticos, sugerindo que o vírus permaneceu latente durante o período de indetecção do RNA viral. É sabido também que pacientes que alcançaram RVS podem progredir para uma doença hepática, sendo incerto que os DAAs oferecem benefício clínico significativo em termos de redução das complicações relacionadas à hepatite C. São necessários mais estudos acerca de tratamento com DAAs a longo prazo.

Uma vacina eficiente contra o HCV deve estimular as diferentes vertentes da resposta imune: respostas humorais, T-helper e LTC, porém, a alta heterogeneidade e mutagenicidade do HCV ainda é um problema na elaboração da vacina profilática. Novos estudos com vacinas de diversas categorias estão sendo consideradas promissoras, como as vacinas baseadas em DNA, peptídeos, proteínas recombinantes e vetores, pois apresentam muitas vantagens e foram incluídas em ensaios clínicos humanos fase I / II (GUO; ZHONG; LI, 2018).

8.1 Categorias de vacinas

8.1.1 Vacinas de proteínas recombinantes

As vacinas de proteínas recombinantes são obtidas a partir do isolamento do gene codificante da proteína de interesse com posterior clonagem em vetores, como bactérias, leveduras ou células de mamíferos. As vantagens desse tipo de vacina se dão por não conter o patógeno ou seu material genético e por não haver a necessidade de um sistema de cultura (GUO; ZHONG; LI, 2018). Mas vacinas baseadas em proteínas recombinantes também possuem desvantagens, uma vez que a maioria delas apresentam imunogenicidade fraca quando administradas sozinhas, portanto, requerem uso de adjuvantes⁴ para fornecer uma resposta imune de maior durabilidade (PÉREZ *et al.*, 2012 *apud* NASCIMENTO; LEITE, 2012).

Exemplos clássicos de vacinas de proteínas recombinantes atualmente administradas em humanos são da hepatite B (HBV) e papilomavírus humano (HPV) (NASCIMENTO; LEITE, 2012).

A vacina HCV E1E2/MF59 mostrou-se segura e provocou linfoproliferação e resposta humoral em estudo clínico de fase I, realizado em 2010 (FREY *et al.*, 2010). Em 2015, pesquisadores apontaram por meio de um estudo, assim como já foi apontado em outros estudos (ZHANG *et al.*, 2007; ZHANG *et al.*, 2009), que ocorria neutralização cruzada de anticorpos contra anticorpos que reconhecem epítomos diferentes da glicoproteína E2, indicando que para melhorar a qualidade e eficácia de futuras vacinas, seria necessário impedir a indução de anticorpos contra o epítomo que abrange os aminoácidos 432-446 (KACHKO *et al.*, 2015).

⁴ Materiais que aumentam ou provocam resposta imune; substâncias imunopotencializadoras (RESENDE *et al.*, 2004).

8.1.2 Vacinas de peptídeos sintéticos

São peptídeos virais, que normalmente possuem múltiplos epítomos, acoplados a adjuvantes capazes de induzir respostas humoral e celular (ABDELWAHAB; SAID ZN, 2016; GUO; ZHONG; LI, 2018). Estas vacinas podem induzir respostas de células T específicas pela apresentação do peptídeo para células T via moléculas HLA, sendo, portanto, HLA específicas. Nesta condição, a elaboração desta vacina possui limitações, uma vez que a alta taxa de variação genética em populações virais do HCV em diferentes regiões geográficas dificulta o uso universal destas vacinas (GUO; ZHONG; LI, 2018).

8.1.3 Vacinas de DNA

A vacina de DNA foi descrita inicialmente em 1990 e desde então é considerada uma das mais promissoras técnicas de imunização contra uma variedade de patógenos (GUO; ZHONG; LI, 2018). Esta técnica consiste na tecnologia do DNA recombinante que envolve a transferência de um determinado gene (transgene), que codifica uma proteína (imunógeno), no interior de um vetor de expressão para células eucarióticas (WAINE; McMANUS, 1995 *apud* KANO; VIDOTTO, O.; VIDOTTO, M. C., 2007).

O vetor ideal deve ser capaz de carrear grande capacidade genômica, ser de fácil produção, impedir replicação autônoma do DNA, não ser tóxico e não induzir reações de tolerância e auto-imunidade (GLENTING; WESSLES, 2005 *apud* KANO; VIDOTTO, O.; VIDOTTO, M. C., 2007). Já as vantagens deste tipo de vacina se dá devido a viabilidade de produção, simplicidade de manipulação de DNA e respostas imunes de diferentes origens, tais como células T auxiliares, linfócitos T citotóxicos e respostas de anticorpos (HU, 2005 *apud* GUO; ZHONG; LI, 2018).

Na tentativa de desenvolver uma vacina contra o HCV, os estudos se concentraram principalmente nas propriedades moleculares do vírus, o que demonstrou que seu genoma apresenta uma alta heterogeneidade e

mutagenicidade, implicando na geração tanto de uma vacina profilática quanto terapêutica (GUO; ZHONG; LI, 2018).

8.1.4 Vacinas de vetores virais

Vetores virais são considerados ferramentas potenciais no desenvolvimento de vacinas. Vetores virais com a capacidade de expressar antígenos estranhos são eficazes para induzir imunidade de células T e são promissores para a indução de fortes respostas humorais contra doenças infecciosas. Adenovírus, MVA, alphavírus e paramyxovírus, são exemplos de vetores utilizados no desenvolvimento de vacinas contra o HCV (ABDELWAHAB; SAID, 2016; GUO; ZHONG; LI, 2018).

O vetor de Adenovírus (Ad) é considerado o vetor mais potente por induzir respostas imunes humorais e de células TCD8⁺ em humanos, porém, a imunogenicidade do Ad pode ser inatingível por conta da imunidade anti-Ad pré-existente, uma vez que títulos elevados de anticorpos anti-vetores podem interferir com a potência imunológica destas vacinas (ABDELWAHAB; SAID, 2016; GUO; ZHONG; LI, 2018). Vacinas contra HCV baseadas no vetor Ad são bastante promissoras e encontram-se em ensaios clínicos de fase I e II (ID: NCT01070407; NCT01070407; NCT01436357) (CLINICALTRIALSGOV).

Outro vetor bastante promissor no desenvolvimento da vacina contra HCV é o vetor baseado em *Modified Vaccinia Ankara* (MVA). Assim como vacinas baseadas no vetor Ad, as vacinas baseadas em MVA, que têm como alvo as proteínas estruturais e não estruturais do HCV, mostraram em ensaios pré-clínicos e clínicos alta resposta de células T (ABRAHAM *et al.*, 2004; ROLLIER *et al.*, 2004; HABERSETZER *et al.*, 2011 *apud* GÓMEZ *et al.*, 2013). Este vetor vem também sendo avaliado em ensaios clínicos contra outras doenças, como malária, tuberculose e HIV (PAVOT *et al.*, 2017). A vacina MVA-NSmut contra o HCV encontra-se em ensaio clínico de fase II (ID: NCT01436357) (CLINICALTRIALSGOV).

8.1.5 Vacinas baseadas em culturas de células virais

As culturas de células provaram ser indispensáveis para uma variedade de aplicações, dentre elas, na área da pesquisa (RAVI *et al.*, 2014). Sistemas robustos de cultura de células infecciosas do HCV de isolados de diferentes genótipos representam ferramentas valiosas para o estudo *in vitro* da heterogeneidade genética do HCV, que desempenha papel importante na progressão da doença e representa um desafio significativo para o desenvolvimento de vacinas (LI *et al.*, 2014). Até 2005, carecia de um sistema de cultura de células infecciosas para o HCV, dificultando análises detalhadas do HCV, como estudos do ciclo de vida viral, dificultando o desenvolvimento de estratégias antivirais (WAKITA *et al.*, 2005).

Estudos como o de Lindenbach *et al.* (2005) e Wakita *et al.* (2005) auxiliaram no progresso na pesquisa de vacinas contra o HCV. Estes estudos mostraram que a transfecção das estirpes JFH1 e J6/JFH1 do genótipo 2 do HCV em células Huh7, resultava na secreção de partículas virais que são infecciosas para células em cultura e em chimpanzés.

Em estudos experimentais recentes, camundongos demonstraram a ocorrência de produção de anticorpos neutralizantes contra o envelope viral do HCV quando imunizados com vacina derivada de cultura de células (AKAZAWA *et al.*, 2013; GOTTWEIN; BUKH, 2013 *apud* ABDELWAHAB; SAID, 2016).

8.1.6 Vacinas baseadas em células dendríticas

Como dito anteriormente, as DCs apresentam papel importante na regulação da imunidade, sendo assim, estudos estão em desenvolvimento na tentativa de criar uma vacina baseada em DC para o gerenciamento em estágios iniciais ou até mesmo na busca da cura da infecção pelo HCV (ZHOU *et al.*, 2012).

Para que seja possível, o primeiro impasse é a busca por alternativas para o desenvolvimento de DCs *ex vivo*. A estratégia mais utilizada é a geração de DC a partir de monócitos (MDDC), que consiste em um protocolo de cultura de dois

estágios (1) isolamento dos monócitos, que pode ser feita na corrente sanguínea por aderência ou seleção positiva utilizando contas imunomagnéticas, sendo diferenciados em relação às iDC; (2) indução de DCs maduras por meio de GM-CSF e IL-4. Entretanto, uma grande complicação encontrada é a variação na composição dos meios de cultura, doses dos reagentes, condições de cultura, coquetel de reagentes como CD40L e do ácido policitidílico, do inglês *Polyinosinic*, um imuno estimulante usado na forma de sal de sódio para simular infecções virais, que interage com o receptor TLR3, expresso na membrana das células B, macrófagos e células dendríticas. O período total de duração da cultura *in vitro* é em torno de uma semana (ROUAS, 2004; FIGDOR *et al.*, 2004; ZHOU *et al.*, 2012).

Algumas pesquisas estão em andamento, tendo como objetivo final, desenvolvimento de uma vacina baseada em DCs, como por exemplo, Moriya *et al.* (2001) manipularam a protease de fusão da toxina do Antrax contendo o epítipo do HCV, como veículo para o transporte do antígeno para DC, e mencionaram que a imunização com DC induzida por protease de fusão foi capaz de induzir linfócitos citotóxicos específicos para o HCV em ratos. Em seguida, estes camundongos imunizados, foram capazes de induzir LT citotóxicos específicos contra o núcleo do HCV. Portanto, considera-se promissor o desenvolvimento de uma vacina baseada em linfócitos citotóxicos induzidos por células dendríticas contra o HCV (MATSUI *et al.*, 2002; ZHOU *et al.*, 2012).

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A eliminação mundial do HCV é um assunto frequente atualmente com o surgimento dos novos DAAs. Na ausência de uma vacina eficaz, os DAAs podem ser fundamentais para atingir este objetivo. No entanto, os custos destes medicamentos ainda podem ser um obstáculo para o governo de muitos países subdesenvolvidos.

A vacina, até então, é o fator fundamental para a eliminação do HCV, considerando seu histórico de sucesso no combate a doenças como varíola, sarampo e poliomielite. Apesar das dificuldades no desenvolvimento de uma vacina preventiva, muitos obstáculos já foram superados, como a criação de um sistema de cultura de células suscetível e permissível à infecção pelo HCV, que permitiu o estudo do ciclo viral, fator importante para o desenvolvimento de uma vacina. Este avanço, portanto, colaborou para os estudos de vacinas que estão em andamento atualmente, algumas delas, inclusive, se encontram em ensaio clínico de fase I e II.

Estudos em torno do sistema imune adaptativo, apontam uma relação importante dos linfócitos T na resolução da infecção aguda pelo HCV, sugerindo que a diminuição *in vivo* de células TCD4⁺ ou CD8⁺ dificultam a depuração do HCV e a recuperação clínica. Desta forma, as vacinas baseadas em vetores virais, que são bem-sucedidas e chegaram a ensaios clínicos de fase II, se tornam bastante promissoras. A vacina baseada no vetor viral MVA (MVA-NSmut), por exemplo, induz alta resposta de células T e, é preferível ao vetor Ad, uma vez que este último pode ter imunogenicidade inatingível.

Na ausência de uma vacina, o tratamento de indivíduos doentes com DAAs juntamente com ações preventivas, como o empenho do Ministério da Saúde em diagnosticar grupos de riscos com a finalidade de diminuir a transmissão do vírus, a disseminação do HCV pode diminuir acentuadamente. Mediante este cenário, a OMS em 2016 lançou um projeto que visa reduzir as novas infecções e mortalidade associadas ao HCV, juntamente com o HBV, em 90% e 65%, respectivamente, até 2030.

Apesar de outros elementos de prevenção e tratamentos com taxas de sucesso elevadas, a vacina ainda seria um fator crucial para a eliminação do vírus,

uma vez que a hepatite C é uma doença silenciosa e mensurar a incidência da doença é um fator excepcionalmente difícil, tornando árduo o controle da disseminação do vírus.

Recanati D, et al. *World Journal of Gastroenterology*. 2010; 16(15):1873-1878. <http://dx.doi.org/10.3745/wjg.v16.i15.1873>

ABE T, et al. Hepatitis C Virus Nonstructural Protein 5A Modulates the Receptor-MyD88-Dependent Signaling Pathway in Macrophage Cells. *Journal of Virology*. 2011; 85(17):8563-8575. <http://dx.doi.org/10.1128/JVI.01411-11>

ABRILHAU J. *Comunidade e Saúde*. 2010; 13(1):1-10. <http://dx.doi.org/10.1590/S1518-87442010000100001>

AMARAL T. *Revista de Saúde Pública*. 2010; 44(1):1-10. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-71672010000100001>

AMORIM M. *Revista de Saúde Pública*. 2010; 44(1):1-10. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-71672010000100001>

ANDERSON R. *Journal of Virology*. 2011; 85(17):8563-8575. <http://dx.doi.org/10.1128/JVI.01411-11>

ANDREAZZI R. *Revista de Saúde Pública*. 2010; 44(1):1-10. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-71672010000100001>

ANDRADA M. *Revista de Saúde Pública*. 2010; 44(1):1-10. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-71672010000100001>

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELWAHAB, Kouka Saadeldin; SAID ZN, Ahmed. Status of hepatitis C virus vaccination: Recent update. **World Journal Of Gastroenterology**, [s.l.], v. 22, n. 2, p.862-873, 2016. Baishideng Publishing Group Inc.. <http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v22.i2.862>.

ABE, T. et al. Hepatitis C Virus Nonstructural Protein 5A Modulates the Toll-Like Receptor-MyD88-Dependent Signaling Pathway in Macrophage Cell Lines. **Journal Of Virology**, [s.l.], v. 81, n. 17, p.8953-8966, 13 jun. 2007. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jvi.00649-07>.

ABRAHAM, J. Comparative immunogenicity analysis of modified vaccinia Ankara vectors expressing native or modified forms of hepatitis C virus E1 and E2 glycoproteins. **Vaccine**, [s.l.], v. 22, n. 29-30, p.3917-3928, set. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2004.04.005>.

AHLENSTIEL, Golo et al. Early Changes in Natural Killer Cell Function Indicate Virologic Response to Interferon Therapy for Hepatitis C. **Gastroenterology**, [s.l.], v. 141, n. 4, p.1231-1239, out. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2011.06.069>.

AKAZAWA, Daisuke et al. Neutralizing Antibodies Induced by Cell Culture-Derived Hepatitis C Virus Protect Against Infection in Mice. **Gastroenterology**, [s.l.], v. 145, n. 2, p.447-455, ago. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2013.05.007>.

ALATRAKCHI, N. et al. Hepatitis C Virus (HCV)-Specific CD8+ Cells Produce Transforming Growth Factor That Can Suppress HCV-Specific T-Cell Responses. **Journal Of Virology**, [s.l.], v. 81, n. 11, p.5882-5892, 21 mar. 2007. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jvi.02202-06>.

ANDINO, Raul; DOMINGO, Esteban. Viral quasispecies. **Virology**, [s.l.], v. 479-480, p.46-51, maio 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2015.03.022>.

ANDRADE, Midia Barbosa Pimentel de. **Caracterização epidemiológica, virológica e imunológica de voluntários anti-HCV reativos do município de Iranduba, região metropolitana de Manaus**. 2013. 95 f. Dissertação (Mestrado) -

Curso de Imunologia Básica e Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2013.

ARGENTINI, Claudio et al. HCV genetic variability: from quasispecies evolution to genotype classification. **Future Microbiology**, [s.l.], v. 4, n. 3, p.359-373, abr. 2009. Future Medicine Ltd. <http://dx.doi.org/10.2217/fmb.09.8>.

ASHFAQ, Usman A et al. An overview of HCV molecular biology, replication and immune responses. **Virology Journal**. Lahore, Pakistan, p. 1-10. 10 fev. 2011.

BOETTLER, Tobias et al. T Cells with a CD4CD25 Regulatory Phenotype Suppress In Vitro Proliferation of Virus-Specific CD8 T Cells during Chronic Hepatitis C Virus Infection. **Journal Of Virology**. Parma, p. 7860-7867. jun. 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1143651/pdf/2399-04.pdf>>. Acesso em: 23 jan. 2019.

BONANNI, Paolo. Demographic impact of vaccination: a review. **Vaccine**. Florence, v. 17, p. 120-125, out. 1999, Elsevier. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X99003060?via%3Dihub>> Acesso em: 10 mar. 2019.

BOLACCHI, F. et al. Increased hepatitis C virus (HCV)-specific CD4+CD25 + regulatory T lymphocytes and reduced HCV-specific CD4+ T cell response in HCV-infected patients with normal versus abnormal alanine aminotransferase levels. **Clinical And Experimental Immunology**, [s.l.], v. 144, n. 2, p.188-196, maio 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2249.2006.03048.x>.

BOYER, O. et al. CD4+CD25+ regulatory T-cell deficiency in patients with hepatitis C-mixed cryoglobulinemia vasculitis. **Blood**, [s.l.], v. 103, n. 9, p.3428-3430, 1 maio 2004. American Society of Hematology. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2003-07-2598>.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais 2017**, Brasília, v. 48, n. 24, jul. 2017. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/system/tdf/pub/2017/64626/boletim_hepatites_virais2017_pdf_25238.pdf?file=1&type=node&id=64626&force=1> Acesso em: 23 jan. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais 2018**, Brasília, v. 49, n. 31, jul. 2018. Disponível em: <

http://www.aids.gov.br/system/tdf/pub/2018/65812/boletim_hepatites_2018_sm.pdf?file=1&type=node&id=65812&force=1> Acesso em: 23 jan. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Plano para eliminação da Hepatite C no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, 2018. Disponível em: < <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2019/plano-para-eliminacao-da-hepatite-c-no-brasil>> Acesso em: 10 mar. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Programa Nacional de Imunizações: 30 anos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2003. Disponível em: < http://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/livro_30_anos_pni.pdf> Acesso em: 10 mar. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções 2017**. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. Disponível em: < <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2017/protocolo-clinico-e-diretrizes-terapeuticas-para-hepatite-c-e-coinfecoes>> Acesso em: 10 mar. 2019.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **SARAMPO: SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA**. 2019. Disponível em: <<http://portalms.sau.gov.br/sau-de-a-z/sarampo-situacao-epidemiologica>>. Acesso em: 04 mar. 2019.

BRASIL. UNICEF. **Surto global de sarampo, uma ameaça crescente para crianças**. 2019. Disponível em: <<https://www.unicef.org/brazil/comunicados-de-imprensa/surto-global-de-sarampo-uma-ameaca-crescente-para-criancas>>. Acesso em: 04 mar. 2019.

BUKH, Jens. The history of hepatitis C virus (HCV): Basic research reveals unique features in phylogeny, evolution and the viral life cycle with new perspectives for epidemic control. **Journal Of Hepatology**. Copenhagen, p. 2-21. jul. 2016.

CABRERA, Roniel et al. An immunomodulatory role for CD4+CD25+ regulatory T lymphocytes in hepatitis C virus infection. **Hepatology**, [s.l.], v. 40, n. 5, p.1062-1071, 14 out. 2004. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.20454>.

CAMPBELL, Kerry S.; PURDY, Amanda K.. Structure/function of human killer cell immunoglobulin-like receptors: lessons from polymorphisms, evolution, crystal

structures and mutations. **Immunology**, [s.l.], v. 132, n. 3, p.315-325, 7 jan. 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2567.2010.03398.x>.

CHAN, Stephanie T.; OU, Jing-hsiung James. Hepatitis C Virus-Induced Autophagy and Host Innate Immune Response. **Viruses**, [s.l.], v. 9, n. 8, p.1-10, 12 ago. 2017. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/v9080224>.

CHOO, Q. L.; KUO, G.; WEINER, A. J. et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. **Science**, v. 244, n. 4902, p. 359-62, Apr 21 1989.

COICO, Richard. **Imunologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 380 p.

DOLGANIUC, Angela; SZABO, Gyongyi. T cells with regulatory activity in hepatitis C virus infection: what we know and what we don't. **Journal Of Leukocyte Biology**. Massachusetts, p. 614-622. 21 maio 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2516897/#!po=59.6774>>. Acesso em: 23 jan. 2019.

DOWD, Kimberly A. et al. Selection Pressure From Neutralizing Antibodies Drives Sequence Evolution During Acute Infection With Hepatitis C Virus. **Gastroenterology**, [s.l.], v. 136, n. 7, p.2377-2386, jun. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2009.02.080>.

DUSTIN, Lynn B.; CASHMAN, Siobhán B.; LAIDLAW, Stephen M.. Immune control and failure in HCV infection-tipping the balance. **Journal Of Leukocyte Biology**, [s.l.], v. 96, n. 4, p.535-548, 11 jul. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1189/jlb.4ri0214-126r>.

EBINUMA, H. et al. Identification and In Vitro Expansion of Functional Antigen-Specific CD25+ FoxP3+ Regulatory T Cells in Hepatitis C Virus Infection. **Journal Of Virology**, [s.l.], v. 82, n. 10, p.5043-5053, 12 mar. 2008. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jvi.01548-07>.

FALADE-NWULIA, Oluwaseun et al. Oral Direct-Acting Agent Therapy for Hepatitis C Virus Infection. **Annals Of Internal Medicine**, [s.l.], v. 166, n. 9, p.637-648, 21 mar. 2017. American College of Physicians. <http://dx.doi.org/10.7326/m16-2575>.

FERREIRA, Cristina Targa; SILVEIRA, Themis Reverbel da. Hepatites virais: aspectos da epidemiologia e da prevenção. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, Porto Alegre, v. 4, n. 7, p.473-487, 2004. Disponível em: <https://www.scielo.org/article/ssm/content/raw/?resource_ssm_path=/media/assets/rbepid/v7n4/10.pdf>. Acesso em: 25 maio 2018.

FIGDOR, Carl G et al. Dendritic cell immunotherapy: mapping the way. **Nature Medicine**, [s.l.], v. 10, n. 5, p.475-480, 30 abr. 2004. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nm1039>.

FREY, Sharon E. et al. Safety and immunogenicity of HCV E1E2 vaccine adjuvanted with MF59 administered to healthy adults. **Vaccine**, [s.l.], v. 28, n. 38, p.6367-6373, ago. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.06.084>.

GALE, Michael; FOY, Eileen M.. Evasion of intracellular host defence by hepatitis C virus. **Nature**, [s.l.], v. 436, n. 7053, p.939-945, ago. 2005. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nature04078>.

GARCIA, Thamy Jay et al. Efeitos colaterais do tratamento da hepatite C no polo aplicador do ABC. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 5, n. 58, p.543-549, maio 2012.

GLENTING, Jacob; WESSELS, Stephen. Ensuring safety of DNA vaccines. **Microbial Cell Factories**, [s.l.], v. 4, n. 1, p.1-5, 2005. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/1475-2859-4-26>.

GODKIN, A. J.; THOMAS, H. C.; OPENSHAW, P. J.. Evolution of Epitope-Specific Memory CD4+ T Cells After Clearance of Hepatitis C Virus. **The Journal Of Immunology**, [s.l.], v. 169, n. 4, p.2210-2214, 15 ago. 2002. The American Association of Immunologists. <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.169.4.2210>.

GOLDBERG, Anna Carla; RIZZO, Luiz Vicente. MHC structure and function – antigen presentation. Part 1. **Einstein (São Paulo)**, [s.l.], v. 13, n. 1, p.153-156, 24 mar. 2015. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1679-45082015rb3122>.

GÓMEZ, Carmen E. et al. High, Broad, Polyfunctional, and Durable T Cell Immune Responses Induced in Mice by a Novel Hepatitis C Virus (HCV) Vaccine Candidate (MVA-HCV) Based on Modified Vaccinia Virus Ankara Expressing the Nearly Full-

Length HCV Genome. **Journal Of Virology**. Madrid, p. 7282-7300. abr. 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3700320/pdf/zjv7282.pdf>>. Acesso em: 25 abr. 2019.

GOTTWEIN, Judith M.; BUKH, Jens. Cell-culture-derived HCV—a promising vaccine antigen. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, [s.l.], v. 10, n. 9, p.508-509, 30 jul. 2013. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nrgastro.2013.136>.

GRAKOU, A.. HCV Persistence and Immune Evasion in the Absence of Memory T Cell Help. **Science**, [s.l.], v. 302, n. 5645, p.659-662, 24 out. 2003. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.1088774>.

GUO, Xuan; ZHONG, Jin-yi; LI, Jun-wen. Hepatitis C Virus Infection and Vaccine Development. **Journal Of Clinical And Experimental Hepatology**. Beijing, p. 195-204. jun. 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jceh.2018.02.003>.

GUPTA, Prakash K. et al. CD39 Expression Identifies Terminally Exhausted CD8+ T Cells. **Plos Pathogens**, [s.l.], v. 11, n. 10, p.1-21, 20 out. 2015. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1005177>.

HABERSETZER, François et al. A Poxvirus Vaccine Is Safe, Induces T-Cell Responses, and Decreases Viral Load in Patients With Chronic Hepatitis C. **Gastroenterology**, [s.l.], v. 141, n. 3, p.890-899, set. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2011.06.009>.

HALLIDAY, John; KLENERMAN, Paul; BARNES, Eleanor. Vaccination for hepatitis C virus: closing in on an evasive target. **Expert Review Of Vaccines**, [s.l.], v. 10, n. 5, p.659-672, maio 2011. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1586/erv.11.55>.

HEIM, Markus H.; THIMME, Robert. Innate and adaptive immune responses in HCV infections. **Journal Of Hepatology**, [s.l.], v. 61, n. 1, p.14-25, nov. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2014.06.035>.

HORNER, Stacy M; GALE, Michael. Regulation of hepatic innate immunity by hepatitis C virus. **Nature Medicine**, [s.l.], v. 19, n. 7, p.879-888, jul. 2013. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nm.3253>.

HU, Chi-tan. Vaccine Development for Hepatitis C: Lessons from the Past Turn into Promise for the Future. **Tzu Chi Med J.** Hualien, p. 61-74. jan. 2005.

IYENGAR, Swathi et al. Prices, Costs, and Affordability of New Medicines for Hepatitis C in 30 Countries: An Economic Analysis. **Plos Medicine**, [s.l.], v. 13, n. 5, p.1-22, 31 maio 2016. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.1002032>.

JAKOBSEN, Janus Christian et al. Do direct acting antivirals cure chronic hepatitis C? **Bmj**, [s.l.], p.1-4, 10 maio 2018. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.k1382>.

JO, Juandy et al. Analysis of CD8+ T-Cell-Mediated Inhibition of Hepatitis C Virus Replication Using a Novel Immunological Model. **Gastroenterology**, [s.l.], v. 136, n. 4, p.1391-1401, abr. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2008.12.034>.

KACHKO, Alla et al. Antibodies to an interfering epitope in hepatitis C virus E2 can mask vaccine-induced neutralizing activity. **Hepatology**, [s.l.], v. 62, n. 6, p.1670-1682, 16 out. 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.28108>.

KANO, Flora Satiko; VIDOTTO, Odilon; VIDOTTO, Marilda Carlos. Vacina de DNA: aspectos gerais e sua aplicação na medicina humana e veterinária. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 4, p.709-726, out. 2007.

KIM, Chang Wook; CHANG, Kyong-mi. Hepatitis C virus: virology and life cycle. **Clinical And Molecular Hepatology**, [s.l.], v. 19, n. 1, p.17-25, 2013. The Korean Association for the Study of the Liver. <http://dx.doi.org/10.3350/cmh.2013.19.1.17>.

KIM, Arthur Y. et al. Spontaneous Control of HCV Is Associated With Expression of HLA-B*57 and Preservation of Targeted Epitopes. **Gastroenterology**, [s.l.], v. 140, n. 2, p.686-696, fev. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2010.09.042>.

KLENERMAN, Paul; THIMME, Robert. T cell responses in hepatitis C: the good, the bad and the unconventional. **Gut**, [s.l.], v. 61, n. 8, p.1226-1234, 28 ago. 2011. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2011-300620>.

LEE, Jiyoung et al. TNF- α Induced by Hepatitis C Virus via TLR7 and TLR8 in Hepatocytes Supports Interferon Signaling via an Autocrine Mechanism. **Plos Pathogens**, [s.l.], v. 11, n. 5, p.1-19, 29 maio 2015. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1004937>.

LI, Yi-ping et al. Efficient Infectious Cell Culture Systems of the Hepatitis C Virus (HCV) Prototype Strains HCV-1 and H77. **Journal Of Virology**, [s.l.], v. 89, n. 1, p.811-823, 29 out. 2014. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jvi.02877-14>.

LINDENBACH, B. D. et al. Complete Replication of Hepatitis C Virus in Cell Culture. **Science**, [s.l.], v. 309, n. 5734, p.623-626, 22 jul. 2005. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.1114016>.

LU, Yong-chen; YEH, Wen-chen; OHASHI, Pamela S.. LPS/TLR4 signal transduction pathway. **Cytokine**, [s.l.], v. 42, n. 2, p.145-151, maio 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2008.01.006>.

MACDONALD, A. et al. The hepatitis C virus NS5A protein binds to members of the Src family of tyrosine kinases and regulates kinase activity. **Journal Of General Virology**, [s.l.], v. 85, n. 3, p.721-729, 1 mar. 2004. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/vir.0.19691-0>. Disponível em: <<http://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/jgv/85/3/721.pdf?expires=1540124330&id=id&accname=guest&checksum=2A46905E05BD3590790E6C602C282BCB>>. Acesso em: 21 out. 2018.

MAGALHÃES, Pedro Silva Correa de; BÖHLKE, Maristela; NEUBARTH, Fernando. Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC): codificação genética, bases estruturais e implicações clínicas. **Rev. Med. Ucpel**, Pelotas, v. 1, n. 2, p.54-59, jun. 2004.

MAJOR, Marian E. et al. Hepatitis C virus kinetics and host responses associated with disease and outcome of infection in chimpanzees. **Hepatology**, [s.l.], v. 39, n. 6, p.1709-1720, 2004. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.20239>.

MARTELL, M et al. Hepatitis C virus (HCV) circulates as a population of different but closely related genomes: quasispecies nature of HCV genome distribution. **Virology Journal**. Emeryville, p. 3225-3229. maio 1992. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC241092/pdf/jvirol00037-0637.pdf>>. Acesso em: 14 out. 2018.

MARTINS, Patricia Pais. **AVALIAÇÃO DE METODOLOGIAS MOLECULARES PARA DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO VÍRUS DA HEPATITE C**. 2010. 93 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências em Medicina Tropical, Instituto Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz/fiocruz, Rio de Janeiro, 2010.

MASAKI, T. et al. Interaction of Hepatitis C Virus Nonstructural Protein 5A with Core Protein Is Critical for the Production of Infectious Virus Particles. **Journal Of Virology**, [s.l.], v. 82, n. 16, p.7964-7976, 4 jun. 2008. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jvi.00826-08>.

MATSUI, Masanori et al. Induction of hepatitis C virus-specific cytotoxic T lymphocytes in mice by immunization with dendritic cells transduced with replication-defective recombinant adenovirus. **Vaccine**, [s.l.], v. 21, n. 3-4, p.211-220, dez. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0264-410x\(02\)00460-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0264-410x(02)00460-7).

MCKIERNAN, Susan M. et al. Distinct MHC class I and II alleles are associated with hepatitis C viral clearance, originating from a single source. **Hepatology**, [s.l.], v. 40, n. 1, p.108-114, 2004. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.20261>.

MEDZHITOV, Ruslan; JANEWAY, Charles. Innate Immunity. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 343, n. 5, p.338-344, 3 ago. 2000. New England Journal of Medicine (NEJM/MMS). <http://dx.doi.org/10.1056/nejm200008033430506>.

MELLO, Carlos Eduardo Brandão. Tratamento da hepatite crônica pelo vírus C. Novas perspectivas. **Jornal Brasileiro de Medicina**. São Paulo, p. 23-32. fev. 2014.

MORIYA, Osamu et al. Induction of hepatitis C virus-specific cytotoxic T lymphocytes in mice by immunization with dendritic cells treated with an anthrax toxin fusion protein. **Vaccine**, [s.l.], v. 20, n. 5-6, p.789-796, dez. 2001. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0264-410x\(01\)00407-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0264-410x(01)00407-8).

MOROZOV, Vladimir Alexei; LAGAYE, Sylvie. Hepatitis C virus: Morphogenesis, infection and therapy. **World Journal Of Hepatology**, [s.l.], v. 10, n. 2, p.186-212, 27 fev. 2018. Baishideng Publishing Group Inc.. <http://dx.doi.org/10.4254/wjh.v10.i2.186>.

MURPHY, Donald G. et al. Hepatitis C Virus Genotype 7, a New Genotype Originating from Central Africa. **Journal Of Clinical Microbiology**. Canadá, p. 967-972. mar. 2015. Disponível em: <<https://jcm.asm.org/content/jcm/53/3/967.full.pdf>>. Acesso em: 01 nov. 2018.

NASCIMENTO, I. P.; LEITE, L. C. C.. Recombinant vaccines and the development of new vaccine strategies. **Brazilian Journal Of Medical And Biological Research**. São Paulo, p. 1102-1111. ago. 2012.

NGUYEN, L.H.; NGUYEN, M.H. Systematic review: Asian patients with chronic hepatitis C Infection. **Aliment Pharmacol Ther**, v.37, p. 921–936, 2013.

OLIVEIRA, Isabela Silva de. **RESPOSTA IMUNE CELULAR DE PORTADORES DE HEPATITE C ANTES E NA 12ª SEMANA DE TRATAMENTO COM INTERFERON-ALFA E RIBAVIRINA**. 2015. 43 f. Tese (Doutorado) - Curso de Imunologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2015.

OMICS INTERNATIONAL. **Upstream and downstream (DNA)**. 2019. Disponível em: <<https://www.omicsonline.org/blog/2015/05/08/11469-Upstream-and-downstream-DNA.html>>. Acesso em: 05 maio 2019.

PAVOT, Vincent et al. Generation and Production of Modified Vaccinia Virus Ankara (MVA) as a Vaccine Vector. **Methods In Molecular Biology**, [s.l.], p.97-119, 2017. Springer New York. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-6869-5_6.

PAWLOTSKY, Jean-michel; CHEVALIEZ, Stéphane; MCHUTCHISON, John G.. The Hepatitis C Virus Life Cycle as a Target for New Antiviral Therapies. **Gastroenterology**, [s.l.], v. 132, n. 5, p.1979-1998, maio 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2007.03.116>.

PAWLOTSKY, Jean-michel. Hepatitis C Virus Resistance to Direct-Acting Antiviral Drugs in Interferon-Free Regimens. **Gastroenterology**, [s.l.], v. 151, n. 1, p.70-86, jul. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2016.04.003>.

PAWLITSKY, Jean-michel. New Hepatitis C Therapies: The Toolbox, Strategies, and Challenges. **Gastroenterology**, [s.l.], v. 146, n. 5, p.1176-1192, maio 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2014.03.003>.

PEANO, Gianmichele et al. HLA-DR5: A Genetic Factor Influencing the Outcome of Hepatitis C Virus Infection?. **Arch. Intern. Med.**, Turin, v. 154, p.2733-2736, dez. 1994.

PÉREZ, O. et al. Human prophylactic vaccine adjuvants and their determinant role in new vaccine formulations. **Brazilian Journal Of Medical And Biological Research**, [s.l.], v. 45, n. 8, p.681-692, ago. 2012. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-879x2012007500067>.

PERRELLA et al. Elevated CD4+/CD25+ T cell frequency and function during acute hepatitis C presage chronic evolution. **Gut**, [s.l.], v. 55, n. 9, p.1370-1371, 1 set. 2006. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.2006.099887>.

POPESCU, Costin-ioan; DUBUISSON, Jean. Role of lipid metabolism in hepatitis C virus assembly and entry. **Biology Of The Cell**, [s.l.], v. 102, n. 1, p.63-74, jan. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1042/bc20090125>.

RAVI, Maddaly et al. 3D Cell Culture Systems: Advantages and Applications. **Journal Of Cellular Physiology**. Chennai, p. 16-26. set. 2014.

REI, Andreia; ROCHA, Marta; PEDROTO, Isabel. Health-Related Quality of Life in Portuguese Patients with Chronic Hepatitis C. **Ge - Portuguese Journal Of Gastroenterology**, [s.l.], v. 24, n. 2, p.68-78, 3 dez. 2016. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000450875>.

RESENDE, Fabíola C. B. e et al. Adjuvantes de vacinas: possibilidades de uso em seres humanos ou animais. **Rev. Bras. Alerg. Imunopatol.**, Curitiba, v. 27, n. 3, p.116-124, jan. 2004.

RICE, Maurice. New Insights Into HCV Replication: Potential Antiviral Targets. **Top Antivir. Med.**. Nova Iorque, p. 117-120. ago. 2011.

ROCHE, Bruno et al. The impact of treatment of hepatitis C with DAAs on the occurrence of HCC. **Liver International**, [s.l.], v. 38, p.139-145, fev. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/liv.13659>.

RODRIGUES, João Paulo Vilela; AGUIAR, Bruna Forte; PEREIRA, Leonardo Régis. Evolução do tratamento farmacológico da Hepatite C crônica: da monoterapia com o Interferon convencional aos novos fármacos de ação direta. **Journal Of Applied Pharmaceutical Sciences**. Índia, p. 1-7. jun. 2017.

ROLLIER, C. et al. Control of Heterologous Hepatitis C Virus Infection in Chimpanzees Is Associated with the Quality of Vaccine-Induced Peripheral T-Helper Immune Response. **Journal Of Virology**, [s.l.], v. 78, n. 1, p.187-196, 11 dez. 2004. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jvi.78.1.187-196.2004>.

ROSEN HR, GRETCH DR. Hepatitis C virus: current understanding and prospects for future therapies. **Molecular Medicine Today**. 5:393-399, 1999.

ROUAS, R.. Poly(I: C) used for human dendritic cell maturation preserves their ability to secondarily secrete bioactive IL-12. **International Immunology**, [s.l.], v. 16, n. 5, p.767-773, 29 mar. 2004. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/intimm/dxh077>.

SANJUÁN, Rafael; DOMINGO-CALAP, Pilar. Mechanisms of viral mutation. **Cellular And Molecular Life Sciences**, [s.l.], v. 73, n. 23, p.4433-4448, 8 jul. 2016. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00018-016-2299-6>.

SCITABLE. **Hairpin loop (mRNA)**. 2014. Disponível em: <<https://www.nature.com/scitable/definition/hairpin-loop-mrna-314>>. Acesso em: 05 maio 2019.

SEMMO, Nasser et al. Preferential loss of IL-2-secreting CD4+ T helper cells in chronic HCV infection. **Hepatology**, [s.l.], v. 41, n. 5, p.1019-1028, 2005. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.20669>.

SHIN, Eui-cheol; SUNG, Pil Soo; PARK, Su-hyung. Immune responses and immunopathology in acute and chronic viral hepatitis. **Nature Reviews Immunology**, [s.l.], v. 16, n. 8, p.509-523, 4 jul. 2016. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nri.2016.69>.

SHIN, Eui-cheol et al. Delayed Induction, Not Impaired Recruitment, of Specific CD8+ T Cells Causes the Late Onset of Acute Hepatitis C. **Gastroenterology**, [s.l.], v. 141, n. 2, p.686-695, ago. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2011.05.006>.

SHOUKRY, Naglaa H. et al. Memory CD8+T Cells Are Required for Protection from Persistent Hepatitis C Virus Infection. **The Journal Of Experimental Medicine**, [s.l.], v. 197, n. 12, p.1645-1655, 16 jun. 2003. Rockefeller University Press. <http://dx.doi.org/10.1084/jem.20030239>.

SIMMONDS, P.. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus - 15 years on. **Journal Of General Virology**, [s.l.], v. 85, n. 11, p.3173-3188, 1 nov. 2004. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/vir.0.80401-0>.

SIMON-LORIERE, Etienne; HOLMES, Edward C.. Why do RNA viruses recombine? **Nature Reviews Microbiology**, [s.l.], v. 9, n. 8, p.617-626, 4 jul. 2011. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2614>.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arq Bras Cardiol**. v. 101, n. 4, p. 1-30. Out. 2013.

SPAAN, Michelle; JANSSEN, Harry L.a.; BOONSTRA, Andre. Immunology of hepatitis C virus infections. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, [s.l.], v. 26, n. 4, p.391-400, ago. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpg.2012.09.005>.

STRAUSS, Edna. Hepatite C. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 34, n. 1, p.69-82, fev. 2001.

SUGIMOTO, Kazushi et al. Suppression of HCV-specific T cells without differential hierarchy demonstrated in persistent HCV infection. **Hepatology**, [s.l.], v. 38, n. 6, p.1437-1448, dez. 2003. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hep.2003.09.026>.

SUNG, Pil Soo; RACANELLI, Vito; SHIN, Eui-cheol. CD8+T-Cell Responses in Acute Hepatitis C Virus Infection. **Frontiers In Immunology**, [s.l.], v. 5, p.1-7, 6 jun. 2014. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2014.00266>.

SZABO, Gyongyi; DOLGANIUC, Angela. Hepatitis C and Innate Immunity: Recent Advances. **Clinics In Liver Disease**, [s.l.], v. 12, n. 3, p.675-692, ago. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cld.2008.03.003>.

THIMME, R. et al. Viral and immunological determinants of hepatitis C virus clearance, persistence, and disease. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [s.l.], v. 99, n. 24, p.15661-15668, 19 nov. 2002. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.202608299>.

TIBBS, Christopher et al. Evidence That the HLA DQA1*03 Allele Confers Protection From Chronic HCV – Infection in Northern European Caucasoids. **Hepatology**, Londres, v. 24, n. 6, p.1342-1345, jul. 1996. Disponível em: <<https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/hep.510240604>>. Acesso em: 31 mar. 2019.

ULSENHEIMER, et al. Detection of functionally altered hepatitis C virus-specific CD4+ T cells in acute and chronic hepatitis C. **Hepatology**, [s.l.], v. 37, n. 5, p.1189-1198, maio 2003. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1053/jhep.2003.50194>.

VERCAUTEREN, Koen; JONG, Ype P. de; MEULEMAN, Philip. Animal models for the study of HCV. **Current Opinion In Virology**, [s.l.], v. 13, p.67-74, ago. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coviro.2015.04.009>.

VIANA, Daniel Rodrigues et al. Hepatite B e C: diagnóstico e tratamento. **Revista de Patologia do Tocantins**, [s.l.], v. 4, n. 3, p.73-79, 26 set. 2017. Universidade Federal do Tocantins. <http://dx.doi.org/10.20873/uft.2446-6492.2017v4n3p73>.

XAGORARI, Angeliki; CHLICHLIA, Katerina. Toll-Like Receptors and Viruses: Induction of Innate Antiviral Immune Responses. **The Open Microbiology Journal**. Thessaloniki, p. 49-59. maio 2008.

WAINE, G.j.; MCMANUS, D.p.. Nucleic acids: Vaccines of the future. **Parasitology Today**, [s.l.], v. 11, n. 3, p.113-116, mar. 1995. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0169-4758\(95\)80172-3](http://dx.doi.org/10.1016/0169-4758(95)80172-3).

WAKITA, Takaji et al. Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome. **Nature Medicine**, [s.l.], v. 11, n. 7, p.791-796, 12 jun. 2005. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nm1268>.

WANG, Zhen et al. Vaccination and epidemics in networked populations—An introduction. **Chaos, Solitons & Fractals**, [s.l.], v. 103, p.177-183, out. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chaos.2017.06.004>.

WIELAND, Dominik; HOFMANN, Maike; THIMME, Robert. Overcoming CD8+ T-Cell Exhaustion in Viral Hepatitis: Lessons from the Mouse Model and Clinical Perspectives. **Digestive Diseases**, [s.l.], v. 35, n. 4, p.334-338, 2017. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000456584>

WOODLAND, David L.. Contribution of Vaccination to Human Health. **Viral Immunology**, [s.l.], v. 31, n. 10, p.647-648, dez. 2018. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/vim.2018.29033.dlw>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global hepatitis report, 2017**. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2017. Disponível em: <
<http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255016/9789241565455-eng.pdf;jsessionid=00DD3CA8031A1B5A1AC40906DE2AD04C?sequence=1>>
Acesso em: 23 jan. 2019.

YAMAMOTO, M.. Role of Adaptor TRIF in the MyD88-Independent Toll-Like Receptor Signaling Pathway. **Science**, [s.l.], v. 301, n. 5633, p.640-643, 1 ago. 2003. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.1087262>.

ZAVAGLIA, Claudio et al. HLA typing in chronic type B, C and D hepatitis. **Journal Of Hepatology**. Milan, p. 658-665. jan. 1996.

ZHANG, P. et al. Depletion of interfering antibodies in chronic hepatitis C patients and vaccinated chimpanzees reveals broad cross-genotype neutralizing activity. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [s.l.], v. 106, n. 18, p.7537-7541, 20 abr. 2009. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0902749106>.

ZHANG, P. et al. Hepatitis C virus epitope-specific neutralizing antibodies in Igs prepared from human plasma. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [s.l.], v. 104, n. 20, p.8449-8454, 9 maio 2007. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0703039104>.

ZHOU, Yun et al. Dendritic cell-based immunity and vaccination against hepatitis C virus infection. **Immunology**, [s.l.], v. 136, n. 4, p.385-396, 2 jul. 2012. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2567.2012.03590.x>.

ZINGARETTI, C.; FRANCESCO, R. de; ABRIGNANI, S.. Why is it so difficult to develop a hepatitis C virus preventive vaccine? **Clinical Microbiology And Infection**, [s.l.], v. 20, p.103-109, maio 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12493>.

ZUR WIESCH, Julian Schulze et al. Broadly directed virus-specific CD4+T cell responses are primed during acute hepatitis C infection, but rapidly disappear from human blood with viral persistence. **The Journal Of Experimental Medicine**, [s.l.], v. 209, n. 1, p.61-75, 2 jan. 2012. Rockefeller University Press. <http://dx.doi.org/10.1084/jem.20100388>.