RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 30/03/2018.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE MEDICINA

Aline Márcia Marques Braz

Interação entre Citocinas, Plaquetas e Fibrogênese na Investigação da Metaplasia Mielóide Hepática

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Pesquisa e Desenvolvimento (Biotecnologia Médica).

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Márjorie de Assis Golim
Coorientador: Prof. Dr. Paulo Eduardo de Abreu Machado

Botucatu
2016

Aline Márcia Marques Braz

Interação entre Citocinas, Plaquetas e Fibrogênese na Investigação da Metaplasia Mielóide Hepática

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Pesquisa e Desenvolvimento (Biotecnologia Médica).

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Márjorie de Assis Golim
Coorientador: Prof. Dr. Paulo Eduardo de Abreu Machado

Botucatu
2016

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

Braz, Aline Márcia Marques.
Interação entre citocinas, plaquetas e fibrogênese na investigação da metaplasia mielóide hepática / Aline Márcia Marques Braz. - Botucatu, 2016

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Márjorie de Assis Golim
Coorientador: Paulo Eduardo de Abreu Machado
Capes: 90400003

1. Hepatite C. 2. Metaplasia. 3. Fígado - Doenças. 4. Fígado - Inflamação.

Palavras-chave: Fibrose; Metaplasia; VHC.

Dedicatória

À minha família e amigos,
fontes de alegria e motivação.

Agradecimentos

Primeiramente à Deus que me deu força, saúde e perseverança para conseguir mais essa vitória.

À minha princesinha Ana Clara Braz Rosso, pelo amor incondicional e pela compreensão diante das minhas horas de ausência.

À minha orientadora Prof.ª Dr.ª Márjorie de Assis Golim, que desde os meus primeiros passos na vida acadêmica e profissional tem depositado sobre mim confiança, horas de ensinamentos preciosos e conselhos imensuráveis, sempre com muita compreensão e paciência, motivando-me em cada fase a ser superada. Meu exemplo de profissional de sucesso e de gentileza em pessoa.

Ao Prof. Dr. Paulo Eduardo de Abreu Machado pelos ensinamentos, confiança e dedicação.

À Valéria Alves da Silva por sua amizade, apoio técnico e conselhos tão preciosos.

À equipe do Laboratório de Imunohistoquímica da Patologia da FMB-UNESP, especialmente ao supervisor técnico Marcos Roberto Franchi e a Prof.ª Dr.ª Maria Aparecida Custódio Domingues, pelo apoio técnico, sem o qual este trabalho não se concretizaria.

À Caroline Mitiká Watanabe pela amizade e por todo apoio técnico e pessoal, pois dividiu comigo momentos de alegria, tristeza, desânimo e euforia, sempre me motivando a ir mais longe.

À Luana Aparecida Barbosa, minha amiga, sempre pronta a ajudar e a aconselhar em todos os momentos, lamentando minhas quedas e comemorando minhas vitórias, compartilhando de todas as emoções desta caminhada.

À equipe do ambulatório de Gastroenterologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, pelo auxílio na abordagem dos pacienteS, coleta de dados e amostras.

À equipe do Laboratório de Biologia Molecular pelo apoio técnico.

À Caroline Almeida Lima por sua amizade preciosa, ajuda e dedicação em todas as coletas.

À minha irmã Lilian Marques Braz pelas palavras de motivação e pelo socorro nas horas mais difíceis.

Ao meu pai Edvaldo Braz e minha mãe Fátima Braz pelo amor e apoio incondicional em todas as situações.

Ao Rafael da Silva Marcolino, amigo de longa data, hoje meu namorado, que durante a fase mais difícil da minha caminhada trouxe luz e amor à minha vida, não me deixando desistir e me incentivando a sonhar ainda mais.

À todos os meus amigos do Hemocentro que não só contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho, mas que torceram por mim e compartilharam dos meus momentos de alegria e tristeza.

E principalmente aos meus pacientes, motivação maior deste trabalho, que com muita boa vontade e esperança colaboraram para a realização deste, muito obrigada!

Epígrafe

Penumbra da vida

A vida é alvo de vários estudos científicos, filosofias, crenças e inúmeras indagações poéticas, sendo seu valor imensurável e sua pertinência intransferível. Por de traz das paredes onde vivemos "enjaulados" por nós mesmos, a vemos como algo a ser desvendado, e é nessa ocasião que acabamos por nos prender em um foco obsessivo em obter resultados e conclusões, não nos atentando à essência da própria vida. Esquecemos que por de traz dos nossos projetos e ambições, existe uma imensidão de experiências a serem vividas, e acreditando na nossa, muitas das vezes, falha capacidade de entendimento, almejando por "milagres" que possam nos enaltecer. A humanização por muitas vezes é perdida enquanto nos dirigimos com afã àquilo que chamamos de "satisfação pessoal". Tal pretensão torna-se enleante, visto que quase nunca as pessoas alcançam sua satisfação completa, ao passo que, influenciados ou não pelo capitalismo e pela disputa direta na sociedade atual, almejam cada vez mais poder. Nessa busca desenfreada por satisfação pessoal infinda, acabamos por nos aprisionar em nossas próprias correntes que nos impedem de sermos verdadeiramente felizes, e desfrutarmos dos pequenos detalhes que nos rodeiam. E é quando vemos diante de nós a tênue linha que separa a vida da morte, quando vemos apagar de um olhar o brilho do âmago é que compreendemos: estamos perdendo tempo, pois o relógio corre contra nós que não desfrutamos de tudo aquilo que nos é oferecido tão desinteressadamente. Passamos tão despercebidamente diante de tudo que nos rodeia, que não observamos o esplendor da natureza, a beleza no olhar inocente de uma criança, bem como nos detalhes do sabor dos alimentos. A essência da vida é como o entardecer sob uma grande e

bonita árvore: grandioso, belo e único, além do mais, ele simplesmente está lá, disponível para todos que quiserem admirá-lo enquanto é possível. Por isso, em meio às ocupações diárias, devemos nos atentar que os raios solares que tocam nossa pele, são os mesmos raios que contornam suavemente os ramos das nossas vidas, e não importa o momento que estamos passando na nossa trajetória, temos que ter a certeza de que por de traz da penumbra dos galhos existentes sobre nós, habita um sol forte e grandioso pronto para nos iluminar enquanto é possível. Até que um dia, o entardecer da nossa vida culmine em uma noite sem fim, e não haja mais tempo para quaisquer epílogos.

Aline Braz

Resumo

BRAZ, A. M. M. **Interação entre Citocinas, Plaquetas e Fibrogênese na Investigação da Metaplasia Mielóide Hepática.** 2016. 65 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2016.

Vírus da Hepatite C (VHC) é uma das principais causas de doença inflamatória crônica do fígado, com progressão variável para a fibrose e cirrose hepática. Cerca de 30 a 40% dos pacientes com hepatite C crônica tem manifestações extra-hepáticas, sendo uma variedade destas descritas como associadas ao VHC. Quando a produção da medula é incapaz de manter as necessidades do organismo, em reação secundária a doença mieloproliferativa (policitemia vera, leucemia granulocítica crônica), ou até mesmo de origem idiopática, pode ocorrer hematopoese extramedular (HEM), presente mais comumente no fígado, baço e gânglios linfáticos, os quais passam a exercer função hematopoiética. Com o objetivo de avaliar a existência de hematopoese extramedular hepática em pacientes com hepatite C crônica e sua influência na gênese da fibrose hepática, foram avaliados 69 pacientes VHC positivos, os quais foram submetidos à biópsia hepática percutânea, e estratificados em grupos conforme a classificação METAVIR, conforme descrição abaixo: G1 – n = 19: pacientes no estágio F1 (fibrose portal sem septos); G2 – n = 16: pacientes no estágio F2 (septos poucos); G3 – n = 17: pacientes em estágio F3 (septos numerosos sem cirrose); G4 – n = 17: pacientes em estágio F4 (cirrose); G5 - n = 15: indivíduos saudáveis (grupo controle). Foram realizadas quantificações plasmáticas de quimiocinas (CXCL8, CCL5, CXCL9, CCL2 e CXCL10) e fatores de crescimento (TGF-β, VEGF, FGF, PDGF) e investigada a presença de HEM em cortes histológicos hepáticos por imunohistoquímica com uso dos marcadores CD61/CD34/FatorVIII. Nossos resultados conduzem para o fato que o VHC pode induzir HEM hepática, de aspecto imaturo, localizada no infiltrado inflamatório peri-portal, demonstrada pelas células de fenótipo $CD61^+/CD34^+/FatorVIII^+$. Dentre as quimiocinas envolvidas no processo da fibrogênese, observaram-se aumento de todas as concentrações plasmáticas destas proteínas solúveis nos pacientes VHC quando comparado ao grupo controle, sendo de maior relevância as associações positivas observadas entre o grau de fibrose hepática e os níveis de CXCL8 e CXCL10, no entanto, esta última apresenta-se diminuída após o estabelecimento da cirrose (G4). Quanto aos fatores de crescimento circulantes, observou-se associação negativa entre o grau de fibrose e os níveis de PDGF, não sendo observada relação entre os demais fatores de crescimento e os grupos de estudo. Ao fazer estudo comparativo dos pacientes mediante presença ou ausência de HEM hepática, observou-se expressiva redução dos níveis de PDGF nos pacientes com HEM. Esses dados corroboram com nossa hipótese indicando que possa estar ocorrendo acúmulo intra-hepático de plaquetas, e consequentemente de seus produtos. Os indícios da existência da HEM hepática são de suma importância para a maior compreensão dos mecanismos de ação do VHC, os quais são ainda pouco compreendidos, podendo este fenômeno estar contribuindo para a evolução da fibrose hepática nesses pacientes.

Palavras-chave: Fibrose; Metaplasia; VHC.

Abstract

BRAZ, A. M. M. **Interaction Between Cytokines, Platelets and Fibrogenesis in the investigation of Myeloid Metaplasia Liver.** 2016. 65 f. Thesis (Master) – Faculty of Medicine of Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2016.

Hepatitis C Virus (HCV) is a major cause of chronic liver inflammatory disease with variable progression for fibrosis and cirrhosis. About 30 to 40% of patients with chronic hepatitis C has extrahepatic manifestations and a variety of these described as an association with HCV. When the production of the bone marrow is not able to maintain the homeostasis due a secondary reaction to myeloproliferative disease (polycythemia vera, chronic granulocytic leukemia), or idiopathic causes, it may occur an extramedullary hematopoiesis (EMH), most commonly in the liver, spleen and lymph nodes, which can start the development of hematopoietic function. The purpose of this study is the evaluation of existence of liver extramedullary hematopoiesis in patients with chronic hepatitis C, and the influence in the pathogenesis of liver fibrosis. It was evaluated 69 liver biopsy from HCV positive patients and stratified into groups according to METAVIR rating as described below: G1 - n = 19: patients in the F1 stage (portal fibrosis without septa); G2 - n = 16: patients in stage F2 (few septa); G3 - n = 17: patients with stage F3 (numerous septa without cirrhosis); G4 - n = 17: patients in stage F4 (cirrhosis); G5 - n = 15: healthy individuals (control group). It was quantifed the chemokines (CXCL8, CCL5, CXCL9, CCL2 and CXCL10) and growth factors (TGF-β, VEGF, FGF, PDGF) from plasma and investigated the presence of EMH in the liver tissue sections by immunohistochemistry use of CD61 / CD34 / Fator VIII markers. The results lead to the fact that HCV can induce liver EMH in the immature form, located in peri-portal inflammatory infiltration, demonstrated by the presence of phenotype of cells CD61 + / CD34 + / Factor VIII +. All chemokines concentrations involved in the fibrogenesis process are increased when compared to the control group. Relevant positive associations were observed between the degree of liver fibrosis and the chemokines CXCL8 and CXCL10 levels, however, the CXCL10 has to be decreased after the establishment of cirrhosis (G4). There was a negative association between the degree of fibrosis and the growth factor PDGF, not being observed the relationship between the other growth factors and study groups. When created a comparative study of patients by presence or absence of liver EMH, there was a significant reduction in the levels of PDGF in patients that has EMH. These data corroborate the hypothesis that occurs intrahepatic platelet accumulation and presence of their products in the liver. Evidence of the existence of liver HEM are extremely important for a better understanding of mechanisms of HCV action, which are still poorly understood. This circumstance can contribute to the development of liver fibrosis in these patients.

Key-Words: Fibrosis; HCV; Metaplasy.

Lista de Figuras

Figura 1- O ciclo de infecção de VHC 19
Figura 2 - Alterações da estrutura hepática associada com a fibrose hepática avançada 20
Figura 3 - Mecanismos celulares da fibrose hepática 25
Figura 4 – Fluxograma do provável ciclo infeccioso 30
Figura 5 - Representação da expressão de marcadores em cortes histológicos hepáticos por imunohistoquímica 38
Figura 6 - Número de plaquetas circulantes com relação ao estágio de fibrose hepática em pacientes com hepatite C crônica 40
Figura 7 - Níveis de quimiocinas plasmáticas nos grupos (pg/mL). A) CXCL9; B) CXCL10; C) CXCL8; D) CCL2; E) CCL5 43
Figura 8 - Níveis de fatores de crescimento nos grupos (pg/mL). A) PDGF; B) VEGF; C) FGF 47
Figura 9 - Níveis de PDGF em pacientes com presença ou ausência de hematopoese extramedular (pg/mL) 50
Figura 10 - Número de plaquetas periféricas nos pacientes com presença ou ausência de hematopoese extramedular 51

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Caracterização amostral segundo classificação METAVIR 33
Tabela 2 - Caracterização demográfica da amostra 33
Tabela 3 - Anticorpos primários pesquisados nas biópsias hepáticas, respectivos clones e diluição 36
Tabela 4 - Caracterização demográfica da amostra do ensaio de imunohistoquímica. 37
Tabela 5 - Dosagens de citocinas, quimiocinas plasmáticas (mediana, percentil 25 e percentil 75) e número de indivíduos distribuídos nos grupos 42

Lista de Abreviações

ADP: Adenosina Difosfato

ALT: Alanina Aminotransferase

ATP: Adenosina Trifosfato

DAB: 3,3-diaminobenzidina

ECM: Matriz Extracelular

EGF: Fator de Crescimento Epidérmico

FGF: Fator de Crescimento de Fibroblastos

HEM: Hematopoese Extramedular

HGF: Fator de Crescimento de Hepatócitos

HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana

HSC: Células Estreladas Hepáticas

IMH: Imunohistoquímico

LDL: Lipoproteína de Baixa Densidade

MCP-1: Fator Estimulante de Colônias de Macrófagos

OMS: Organização Mundial de Saúde

PDGF: Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas

SR-B1: Receptor Sc*avenger* tipo B 1

TGF-β: Fator de Crescimento Transformante-β

TNF-α: Fator de Necrose Tumoral Alfa

VEGF: Fator de Crescimento Endotelial Vascular

VHB: Vírus da Hepatite B

VHC: Vírus da Hepatite C

Sumário

1 INTRODUÇÃO 17
2 OBJETIVOS 32
3 MATERIAIS E MÉTODOS 33
3.1 SUJEITOS 33
3.2 INSTRUMENTOS 34
3.3 PROCEDIMENTOS 35
4 RESULTADOS 37
5 CONCLUSÃO 53
REFERÊNCIAS 55
APÊNDICES 61
APÊNDICE A 61
APÊNDICE B 62
ANEXOS 64
ANEXO A 64

1 Introdução

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) há cerca de 130 a 150 milhões de pessoas com hepatite C crônica no mundo, e um número significativo destas irá desenvolver cirrose e/ou carcinoma hepatocelular (WORLD HEALT ORGANIZATION, 2015), porém estima-se que este número seja maior, podendo chegar a 185 milhões de pessoas no mundo (PYBUS et al., 2015). Dentre as mortes causadas por hepatites virais no Brasil no período de 2000 a 2011, o maior número foi em decorrência da hepatite C, com 16.896 óbitos (DST-AIDS HEPATITES VIRAIS, 2012).

Vírus da Hepatite C (VHC) é uma das principais causas de doença inflamatória crônica do fígado, com progressão variável para a fibrose e cirrose hepática (ELSENHARDT et al., 2012; ANJO et al., 2014). É um vírus de transmissão parenteral, sendo suas principais vias de transmissão através de transfusão sanguínea ou de hemoderivados contaminados, uso compartilhado de agulhas e seringas (geralmente por usuários de drogas intravenosas) e reutilização ou esterilização inadequada de equipamentos médicos ou de cuidados de saúde. O VHC também pode ser transmitido sexualmente ou através de transmissão vertical, no entanto, estas vias são menos comuns (WORLD HEALT ORGANIZATION, 2015; ROSSI et al., 2015). Portanto, os indivíduos considerados de risco são aqueles que receberam transfusões de sangue e/ou hemoderivados antes de 1992, usuários de drogas intravenosas, pessoas com tatuagens e *piercings*, portadores de HIV (*Human Immunodeficiency Vírus*), transplantados, hemodialisados, hemofílicos, presidiários e sexualmente promíscuos (POZZETTO et al., 2014).

A hepatite C aguda é uma infecção de curto prazo que ocorre durante os primeiros seis meses após a exposição ao VHC. É caracterizada por elevados níveis séricos de alanina aminotransferase (ALT) e icterícia, que aparece em cerca de 25% dos casos. Cerca de 80% dos casos agudos de hepatite C são assintomáticos, portanto, difíceis de diagnosticar e estabelecer precisamente a data do início da infecção. Cerca de 70% a 80% dos pacientes com infecção aguda desenvolvem hepatite C crônica (AMAN et al., 2012). Apenas 15% a 25% das pessoas infectadas realizam o *clearance* viral espontâneo dentro de seis meses de infecção sem qualquer tratamento (HAJARIZADEH et al., 2013).

A hepatite C crônica é oficialmente diagnosticada pela presença de anti-VHC e elevação dos níveis séricos de ALT por mais de seis meses. Mesmo na fase crônica, a maioria dos pacientes não apresentam sintomas até que as complicações surjam, embora muitas vezes estas demorem até 20 anos após a infecção para ocorrerem (AMAN et al., 2012). Esta fase da infecção costuma apresentar amplo espectro clínico, desde formas com enzimas normais até a hepatite crônica intensamente ativa, cirrose e hepatocarcinoma (STRAUSS, 2001).

5 Conclusão

- Foi demonstrada a existência de hematopoese extramedular hepática em 26 pacientes com hepatite C crônica do total de 48 avaliados, indicando possível reativação da função hematopoética hepática.

- As células encontradas nos cortes histológicos hepáticos apresentaram perfil fenotípico compatível com megacariócitos.

- Das citocinas plasmáticas avaliadas (PDGF, VEGF e FGF), o PDGF apresentou-se inversamente proporcional ao estadiamento de lesão hepática nos pacientes VHC, estando os maiores níveis circulantes em G1 e G2 (grau leve de fibrose) quando comparados com os grupos G3 e G4 (grau elevado). As demais citocinas não apresentaram diferenças nos grupos de estudo. Quando avaliados os níveis de PDGF quanto a presença ou ausencia de HEM hepática, estes apresentaram-se reduzidos naqueles com HEM.

- Nas dosagens de quimiocinas plasmáticas CXCL8, CCL5, CXCL9, CCL2, CXCL10, observou-se aumento de todas nos grupos de pacientes VHC comparados ao grupo controle, especialmente CXCL8 e CXCL10, as quais demonstraram associações positivas com o avanço da lesão hepática.

- O acúmulo de plaquetas intra-hepáticas, o qual pode ser intensificado mediante presença de HEM, pode contribuir para a evolução da fibrogênese no órgão, embora os mecanismos envolvidos na gênese da fibrose hepática não tenham sido avaliados neste estudo.

Referências

AJUEBOR, M. N. et al. C-C Chemokine Ligand 2/Monocyte Chemoattractant Protein-1 Directly Inhibits NKT Cell IL-4 Production and Is Hepatoprotective in T Cell-Mediated Hepatitis in the Mouse. **J. Immunol.**, v. 170, n. 10, p. 5252-259, maio 2003.

ALMEIDA, A. J. et al. Hepatitis C Virus-associated Thrombocytopenia: A Controlled Prospective, Virological Study. **Ann. Hematol.**, v. 83, n. 7, p. 434-440, fev. 2004.

AMAN, W. et al. Current status and future directions in the management of chronic hepatitis C. **Virol. J.**, v. 9, n. 57, p. 1-11, 2012.

AMARAL, I. S. A. et al. Contagem de Plaquetas na Avaliação de Fibrose Hepática. **Rev. Paraense Med.**, v. 24, n. 3/ 4, p. 1-6, 2011.

ANJO, J. et al. The burden of hepatitis C in Portugal. **GE J. Port. Gastrenterol.**, v. 21, n. 2, p. 44-54, marc./ abr. 2014.

ASSINGER, A., Platelets and Infection- an Emerging Role of Platelets in Viral Infection. **Front. Immunol.-Inflammation**, v.5, n. 649, P. 1-12, dez. 2014

BADIMÓN, L. et al. Lipoproteins, Platelets, and Atherothrombosis. **Rev. Esp. Cardiol.**, v. 62, n. 10, p. 1161-78, 2009.

BARONE, A. A. Hepatite C – Desenvolvimento de Novas Drogas e Ensaios Clínicos. **II Consenso da Sociedade Paulista de Infectologia para Manuseio e Terapia da Hepatite C**, p. 48-53, 2004.

BAROSI, G. Myelofibrosis With Myeloid Metaplasia: Diagnostic Definition and Prognostic Classification for Clinical Studies and Treatment Guidelines. **J. Clin. Oncol.**, v. 17, n. 9, p. 2954- 70, set. 1999.

BASSETI-SOARES, E. **Aspectos Fenotípicos Celulares da Imunidade Inata e Adaptativa em Portadores de Hepatite C Crônica com e sem Insuficiência Renal Crônica.** 2006. 100 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina da UFMG, Belo Horizonte, 2006.

CALICH, V.; VAZ, C. **Imunologia.** 2 ed. Rio de Janeiro: Revinter, p. 17-57, 2009.

CAMPBELL, J. S. et al. Platelet-derived Growth Factor C Induces Liver Fibrosis, Steatosis, and Hepatocellular Carcinoma. **PNAS**, v. 102, n. 9, p. 3389-94, mar. 2005.

CARLSEN, T. H. R. et al. Caracterization of Hepatitis C Virus Recombinants with Chimeric E1/E2 Envelope Proteins and Identification of Single Amino Acids in the E2 Stem Region Important for Entry. **J. Virol.**, v. 87, n. 3, p. 1384- 99, fev. 2013.

CHANG, Y. et al. Migration of Hepatic Stellate Cells in Fibrotic Microenvironment of Diseased Liver Model. **Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.**, v. 7, n. 4, p. 401-5, ago. 2008.

CHIU, S. et al. Extramedullary Hematopoiesis (EMH) in Laboratory Animals: Offering an Insight Into Stem Cell Research. **Cell Transplant.**, v. 24, n. 3, p. 349-66, fev. 2015.

CLARK, V. C. et al. New Therapeutic Strategies in HCV: Second-generation Protease Inhibitors. **Liver Int.**, v. 33, n. 1, p. 80-4, fev./ 2013.

CORREIA, H. S.T. et al. Níveis Séricos de Globulinas e a Intensidade da Fibrose Hepática em Pacientes com Esquistossomose Mansônica. **Arq. Gastroenterol.**, v. 46, n. 3, p. 194-198, jul./ set. 2009.

COUTO, O. F. M. **Validação e Comparação de Testes Laboratoriais Simples como Preditores de Fibrose Hepática em Portadores de Hepatite C Crônica.** 2007. 47 f. Dissertação (Mestrado) - UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, Belo Horizonte, 2007.

DST-AIDS HEPATITES VIRAIS. **Hepatites Virais em Números.** 2012. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pagina/hepatites-virais-em-numeros>. Acesso em: 01 dez. 2015.

DUTRA, K. L. **Avaliação da Expressão das Metaloproteinases de Matriz -1, -2 E -9, Presença de Miofibroblastos e Ki-67 em Ameloblastoma.** 2014. 40 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

ELLIOTT M. A. et al. Simultaneous Measurement of Serum Thrombopoietin and Expression of Megakaryocyte c-Mpl with Clinical and Laboratory Correlates for Myelofibrosis with Myeloid Metaplasia. **Eur. J. Haematol.**, v. 68, n. 3, p. 175-179, mar. 2002.

ELSENHARDT, M. et al. The XCR3(+) CD56Bright Phenotype Characterizes a Distinct NK Cell Subset with Anti-Fibrotic Potential That Shows Dys-Regulated Activity in Hepatitis C. **Plos One**, v. 7, n. 7, p. 1-9, jul. 2012.

FRIEDMAN, S. L. Hepáticas células estreladas: Metamorfose, Multifuncional e Células Enigmática do Fígado. **Physiol. Rev.**, v. 88, n. 1, p. 125-172, jan. 2008.

GRESSNER, O. A.; GRESSNER, A. M. Connective Tissue Growth Factor: a Fibrogenic Master Switch in Fibrotic Liver Diseases. **Liver Int.**, v. 28, n. 8, p. 1065-1079, out. 2008.

HENRY, M. et al. Myelofibrosis, Hepatic Extra-medullary Hematopoiesis and Ascites Associated With Vitamin D Deficiency in Early Infancy. **J. Pediatr. Hematol. Oncol.**, v. 36, n. 4, p. 319-321, maio 2014.

HAJARIZADEH, B. et al. Epidemiology and Natural History of HCV Infection. **Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 10, n. 9, p. 553-62, set. 2013.

JESUS, R. P. et al. Regeneração Hepática: Papel dos Fatores de Crescimento e Nutrientes. **Rev. Ass. Med. Bras.**, v. 46, n. 3, p. 242-54, 2000.

JHONS, J. L.; CHRISTOPHER, M. M. Extramedullary Hematopoiesis: A New Look at the Underlying Stem Cell Niche, Theories of Development, and Occurrence in Animals. **Vet. Pathol.**, v. 49, n. 3, p. 508-523, maio 2012.

JIANG, Z. G. et al. Aspirin Use is Associated With Lower Indices of Liver Fibrosis Among Adults in the United States. **Aliment. Pharmacol. Ther.,** v. 43, n. 6, p. 734-43, mar. 2016.

JOHANSSON, S. et al. Plasma Levels of Growth-related Oncogene (CXCL1-3) Associated With Fibrosis and Platelet Counts in HCV-infected Patients. **Aliment. Pharmacol. Ther.,** v. 42, n. 9, p. 1111-21, nov. 2015.

KAPLAN, M. M.; BONIS, P. A. L. Histologic scoring systems for chronic liver disease. **UpToDate**, jan. 2012.

KONG, L. et al. Structural Basis of Hepatitis C Virus Neutralization By Broadly Neutralizing Antibody HCV1. **PNAS**, v.5, n. 22, p. 1-6, abr. 2012.

KUPFER, B. HCV – Virology. In: MAUSS, S. et al. **Hepatology** - A Clinical Textbook. Frankfurt: Flying Publisher, p. 61-82, 2010.

KUSHNER, L. E. et al. Immune Biomarker Differences and Changes Comparing HCV Mono-infected, HIV/HCV Co-infected, and HCV Spontaneously Cleared Patients. **Plos One**. v. 8, p. 1-17, 2013.

LARRUBIA, J. R. et al. Role of Chemokines and Their Receptors in Viral Persistence and Liver Damage During Chronic Hepatitis C Virus Infection. **World J. Gastroenterol.**, v. 14, p. 7149-59, 2008.

LAWITZ, E. et al. Sofosbuvir for Previously Untreated Chronic Hepatitis C Infection. **N. Engl. J. Med.**, v. 368, n. 20, p. 1878-87, maio 2013.

LEE, M. M. et al. Platelets Support Extracellular Sialylation by Supplying the Sugar Donor Substrate. **J. Biol. Chem.**, v. 289, n. 13, p. 8742-8, mar. 2014.

LIANG T J et al. Pathogenesis Natural History, Treatment and Prevention of Hepatitis C. **Ann. Internal Med.**, 132, p. 296-305, 2000.

LYU, J. et al. Roles of lipoprotein receptors in the entry of hepatitis C vírus. **World J. Hepatol.**, v. 7, n. 24, p. 2535-42, out. 2015.

MAEDA, M. F. Y. et al. Vascularização na Cirrose Hepática: Estudo Imunoistoquímico Baseado em Necropsias. **Arq. Gastroenterol.**, v. 45, n. 1, p. 38-45, jan./ mar. 2008.

MAGNONI, M. S. **Perfil Imunofenotípico e Nível de Citocinas Plasmáticas em Portadores de Hepatite C Crônica com Diferentes Graus de Comprometimento Hepático.** 2014. 88 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.

MARTINEZ-ESPARZA, M. et al. Inflammatory Status in Human Hepatic Cirrhosis. **World J. Gastroenterol.**, v. 21, n. 41, p. 11522- 41, nov. 2015.

MENDT, M.; CARDIER, J. E. Role Of SDF-1 (CXCL12) In Regulating Hematopoietic Stem And Progenitor Cells Traffic Into The Liver During Extramedullary Hematopoiesis Induced By G-CSF, AMD3100 And PHZ. **Cytokine**, v. 76, n. 2, p. 214-21, dez. 2015.

MUENCH, O. M. et al. The Adult Livers of Immunodeficient Mice Support Human Hematopoiesis: Evidence for a Hepatic Mast Cell Population that Develops Early in Human Ontogeny. **PLoS One**, v. 9, n. 5, p. 1-15, maio 2014.

MURATA, S. et al. Signal Transduction of Platelet-Induced Liver Regeneration and Decrease of Liver Fibrosis, **Int. J. Mol. Sci.**, v. 15, n. 4, p. 5412- 5425, mar. 2014.

NEUMAN, M. G. et. al. Markers of Inflammation and Fibrosis in Alcoholic Hepatitis and Viral Hepatitis C. **Int. J. Hepatol.**, 2012: p. 1-10.

OLIVEIRA, F. S. **A contribuição do Fator Transformador de Crescimento Beta – 1 TGF-B1 na fibrose hepática: Estudos in vivo e in vitro.** 2009. 57 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

PADOVANI, J. L. et al. In vitro detection of hepatitis C virus in platelets from uninfected individuals exposed to the virus, **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 46, n. 2, p. 154-155, abr. 2013.

POYNARD, T. et al. Natural :History of Liver Fibrosis Progression in Patients With Chronic hepatitis C. **Lancet**, v. 349, p. 825-832, 1997.

POZZETTO, B. et al. Health Care-associated Hepatitis C Virus Infection. **World J. Gastroenterol.**, v. 20, n. 46, p. 17265-78, dez. 2014.

PYBUS, O. G.; THÈZE, J. Hepacivirus Cross-Species Transmission and the Origins of the Hepatitis C vírus. **Curr. Opin. Virol.**, v. 2015, n. 16, p. 1-7, 2015.

ROSENSTINGL, S. et al. Mixed Myelodysplastic Syndrome and Myeloproliferative Disorder with Bone Marrow and Pulmonary Fibrosis: The Role of Megakaryocytes. **Acta Haematol.**, v. 109, n. 3, p. 145-9, abr. 2003.

ROSSI, L. M. et al. Advanced Molecular Surveillance of Hepatitis C Virus. **Viruses**, v. 7, n. 3, p. 1153-88, mar. 2015.

SAHA, B.; SZABO, G. Innate Immune Cell Networking in Hepatitis C Virus Infection. **J. Leukoc. Biol.**, v. 96, n. 6, p. 757-66, nov. 2014.

SEBATIANI, G. et al. Chronic Hepatitis C and Liver Fibrosis. **World J. Gastroenterol.**, v. 20, n. 32, p. 11033-53, ago. 2014.

SILVA, G. F. et al. Grading and Staging Chronic Hepatitis C and Its Relation to Genotypes and Epidemiological Factors in Brazilian Blood Donors. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 9, n. 2, p. 142-9, abr. 2005.

SILVA, G. F. et al. Human Platelet Antigen Genotype Is Associated With Progression of Fibrosis in Chronic Hepatitis C. **J. Med. Virol.**, v. 84, p. 56–60, 2012.

SKLAN, E. H. et al. Mechanisms of HCV survival in the host. **Gastroenterol. Hepatol.**, v. 6: p. 217-27, 2009.

SMITH, D. B. et al. Expanded Classification of Hepatitis C Virus Into 7 Genotypes and 67 Subtypes: Updated Criteria and Genotype Assignment Web Resource. **Hepatology**, v. 59, n. 1, p. 318-27, jan. 2014.

SOARES, S. et al. Participação das Plaquetas no Processo de Fibrose dos Pacientes com Esquistossomose Mansônica. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 40, n. 3, p. 321-5, maio/ jun. 2007.

STRAUSS, E. Hepatite C. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 34, n. 1, p. 69-82, jan./fev. 2001.

TANIKAWA, A. A. **Avaliação dos fatores de crescimento TGF-β1 e PDGF na progressão da fibrose hepática em pacientes cronicamente infectados pelo Vírus da Hepatite C.** 2015. 116 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2015.

TAVIAN, M.; PÉAULT, B. The Changing Cellular Environments of Hematopoiesis in Human Development in Utero. **Exp. Hematol.**, v. 33, n. 9, p. 1062-9, set. 2005.

TOWELL, B. L.; LEVINE, S. P. Massive Hepatomegaly Following Splenectomy for Myeloid Metaplasia. **Am. J. Med.**, v. 82, p. 371-375, fev. 1987.

VARAKLIOTI, A. et al. Alternate Translation Occurs Within The Core Coding Region Of The Hepatitis C Viral Genome. **J. Biol. Chem.**, v. 277, n. 20, p. 17713-17721, maio 2002.

VERRECCHIA, F.; MAUVIEL, A. Transforming Growth Factor-β and Fibrosis. **World J. Gastroenterol.**, v. 13, n. 22, p. 3056-62, jun. 2007.

VISO, A. T. R. Resposta Imune ao Vírus da Hepatite C e Características Genéticas Determinantes. **II Consenso da Sociedade Paulista de Infectologia para Manuseio e Terapia da Hepatite C**, p. 43-7, 2004.

WALD, O. et al. Chemokines in Hepatitis C Virus Infection: Pathogenesis Prognosis and Therapeutics. **Cytokine**, v. 39, n. 1, p. 50-62, jul. 2007.

WANDERLEY, F. G. C. et al. Miofibroblastos Células Relevantes na Saúde e na Doença. **Rev. Bahiana Odontol.**, v. 5, n. 2, p. 117-24, ago. 2014.

WANG, C. et al. Strong Association of Hepatitis C Virus (HCV) Infection and Thrombocytopenia: Implications From a Survey of a Community With Hyperendemic HCV Infection. **Clin. Infect. Dis.**, v. 39, n. 6, p. 790-6, set. 2004.

WASMUTH, H. E. et al. Chemokines in Liver Inflammation and Fibrosis. **Semin. Liver Dis.**, v. 30, p 215-225, 2010.

WORLD HEALT ORGANIZATION. **Media Centre**, Hepatitis C.**.** Jul. 2015. Disponível em: < https://translate.google.com.br/?hl=pt-BR&tab=wT >. Acesso em: 9 nov. 2015.

XU, Z. et al. Synthesis of a novel hepatitis C virus protein by ribosomal frameshift. **EMBO J.**, v. 20, n. 14, p. 3840-48, jul. 2001.

ZANICHELLI, M. A. et al. Hematopoese, Fatores de Crescimento e Aplicação Clínica da Eritropoetina na Anemia da Prematuridade. **Pediatria**, v. 17, n. 3, p. 136-42, maio 1995.

ZEREMSKI, M. et al. The Role of Chemokines as Inflammatory Mediators in Chronic Hepatitis C Virus Infection. **J. Viral. Hepat.**, v. 14, p.675-87, 2007.

ZIMERMAN, J. et al. Metaplasia Megacariocitica Hepatica en Paciente com Trombocitemia Essencial. **Hematologia**, v. 12, n. 1, p. 18, abr. 2008.

ZORZETTO, R. O Mapa das Hepatites. **Pesq. Fapesp**, n. 187, p. 16-21, set. 2011.