

## APOE E SEUS PARCEIROS DE INTERAÇÃO NO CONTEXTO DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE C: UMA VISÃO INTEGRATIVA VÍRUS-HOSPEDEIRO

*Data de submissão: 06/04/2023*

*Data de aceite: 02/05/2023*

### **Vitória Fernandes de Castro**

Universidade Federal Fluminense,  
Instituto de Biologia, Curso de Ciências  
Biológicas  
Rio de Janeiro - RJ  
<http://lattes.cnpq.br/1149814064096153>

### **Luiz Mors Cabral**

Universidade Federal Fluminense,  
Instituto de Biologia, Curso de Ciências  
Biológicas  
Rio de Janeiro - RJ  
<http://lattes.cnpq.br/5525595141868422>

### **Luísa Hoffmann**

Instituto Federal de Educação, Ciência  
e Tecnologia do Rio de Janeiro,  
Departamento de Biotecnologia  
Rio de Janeiro - RJ  
<http://lattes.cnpq.br/2379740311109634>

ciclo replicativo do vírus, onde as frações de menor densidade se mostraram mais infecciosas nos estudos. A APOE se faz importante uma vez que está presente em diversas lipoproteínas, como partículas de VLDL, participa do processo de entrada do vírus na célula, na montagem e liberação da partícula viral. Além disso, a APOE também pode camuflar o HCV e ser usada para escape do reconhecimento pelo sistema imunológico do hospedeiro, favorecendo a progressão para a fase crônica. Esta revisão narrativa teve como objetivo agregar conceitos envolvidos na interação entre APOE com HCV, trazendo informações relevantes sobre a estrutura e função da APOE e sua influência sobre o ciclo infeccioso do HCV e evolução da hepatite C nas suas diferentes isoformas. Além disso, abordou e expôs pontos importantes onde APOE e HCV se influenciam, desde fontes de dados e implicações clínicas, possíveis desdobramentos no diagnóstico, prognóstico e tratamento dos pacientes com hepatite C. Toda essa revisão foi realizada tendo como base conhecimentos prévios presentes na literatura.

**PALAVRAS-CHAVE:** APOE, hepatite C, HCV, interação.

**RESUMO:** O vírus da hepatite C (HCV) é o agente etiológico de uma doença infecciosa que tem impacto significativo para a saúde pública brasileira e mundial, a hepatite C. O HCV se liga a lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e a lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), formando a partícula lipoviral. Essa associação é necessária para o transporte e etapas do

## APOE AND ITS INTERACTION PARTNERS IN THE CONTEXT OF HEPATITIS C VIRUS INFECTION: AN INTEGRATIVE VIRUS-HOST VIEW

**ABSTRACT:** The hepatitis C virus (HCV) is the etiological agent of an infectious disease that has a significant impact on Brazilian and global public health, hepatitis C. HCV binds to low density lipoproteins (LDL) and to very low-density lipoproteins (VLDL), forming the lipoviral particle. This association is necessary for the transport and stages of the virus cycle, where lower density fractions have been shown to be more infectious in the studies. APOE is important since it is present in several lipoproteins, such as VLDL particles, it participates in the process of virus entry into the cell, in the assembly and release of the viral particle. In addition, APOE can also “camouflage” HCV and is used to escape recognition by the host’s immune system, favoring progression to the chronic phase. This narrative review aimed to aggregate concepts involved in the interaction between APOE with HCV, bringing relevant information about APOE structure and function, and its influence on the HCV infectious cycle and evolution of hepatitis C in its different isoforms. In addition, has approached and exposed important points where APOE and HCV are influenced, from data sources and clinical implications, possible developments in the diagnosis, prognosis, and treatment of patients with hepatitis C. All this review was carried out based on previous knowledge present in the literature.

**KEYWORDS:** APOE, hepatitis C, HCV, interaction.

### 1 | INTRODUÇÃO

De acordo com os dados do Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais de 2022, de 2000 a 2021 foram notificados 718.651 casos de hepatites virais no Brasil. Desses, 38,9% são de hepatite C, causada pelo vírus da hepatite C (HCV) (CUNHA *et al.*, 2022). Atualmente foram descritos 8 genótipos de HCV e essa diversidade genética, por sua vez, dificulta o desenvolvimento de vacinas eficazes (BORGIA *et al.*, 2018). No Brasil, há maior prevalência dos genótipos/subtipos de HCV 1a, 1b e 3a (CAMPLOTTO *et al.*, 2005). Além disso, em um mesmo subtipo há subpopulações virais chamadas quasispécies, aumentando a diversidade (SMITH *et al.*, 2014).

Apenas em 1989 identificou-se o HCV como o agente infeccioso responsável por mais de 95% dos casos de hepatite “não-A, não-B” (CHOO *et al.*, 1989; TAKAHASHI *et al.*, 1988). A principal forma de transmissão da hepatite C, pela via parenteral, só foi descoberta em 1992. Outra fonte de transmissão, que era a mais importante até 1993, era a transfusão de sangue. Isso mudou quando a partir de 1993 passaram a fazer testes sorológicos para a detecção do anti-HCV nas bolsas de sangue antes de serem usadas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005). Além disso, desde 2002 foi incorporado um teste baseado na amplificação de ácidos nucleicos para triagem de sangue, com o objetivo de detectar infecção por HCV e outros agentes etiológicos (KAMEDA; CORRÊA; CASSIER, 2018). Outras formas de transmissão são a via vertical (MILLMAN; NELSON; VELLOZZI, 2017) e sexual (TERRAULT, 2002). Importante ressaltar que pelos dados de 2011 a 2021 em 58,3% dos casos não há

informação da possível fonte de infecção, dificultando a caracterização entre possíveis fontes e mecanismos. Verificou-se que o maior percentual de provável fonte de infecção foi o uso de drogas injetáveis com 27,1% (CUNHA *et al.*, 2022).

Após a infecção se estabelecer inicia-se o desenvolvimento da fase aguda. Nesse período a maioria dos pacientes não apresenta sintomas e o diagnóstico é difícil. A resolução espontânea é rara, uma vez que em cerca de 70%-80% dos casos há evolução para a fase crônica, que é a forma mais grave. Com o passar do tempo e agravamento da situação, pode ocorrer o desenvolvimento de fibrose hepática, podendo evoluir para cirrose (cerca de 15 a 20%) e ainda carcinoma hepatocelular (CHC) (CHEN; MORGAN, 2006; MANNS *et al.*, 2017; VALENTE; FERNANDES; TRINDADE, 2010; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020) (Figura 1).

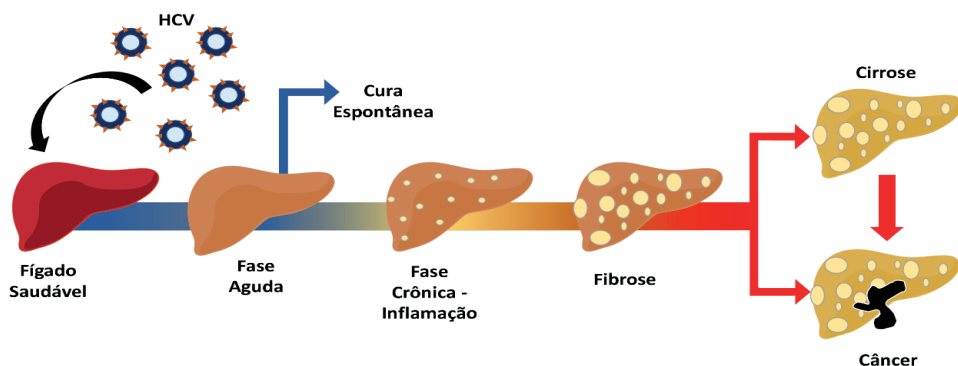


Figura 1: Representação da história natural da infecção pelo HCV.

Fonte: Elaborada pelos autores.

Fatores como coinfeção com vírus da imunodeficiência humana (HIV) ou vírus da hepatite B (HBV), uso abusivo de álcool e drogas, obesidade, ser do sexo masculino e ter idade mais avançada aumentam as chances do desenvolvimento de um quadro mais agressivo da doença (LUNETTA, A. C. F & LUÍS, 2008; RIBEIRO, 2004), porém este é um processo complexo e multifatorial, ainda em caracterização.

A primeira forma de isolamento das partículas de HCV era obtida de amostras de pacientes crônicos ou de chimpanzés usados em laboratório submetidos a inoculação experimental e estava associada a lipoproteínas (PUMEECHOCKCHAI *et al.*, 2002). O HCV se liga a lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e a lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), formando a partícula lipoviral (LVP). Essa associação é necessária para o transporte e etapas do ciclo replicativo do vírus, onde as frações de menor densidade se mostraram mais infecciosas nos estudos. Essas características são por consequência

da associação das partículas de HCV com os triglicerídeos provenientes da dieta e as apolipoproteínas (APO) (CROUCHET; BAUMERT; SCHUSTER, 2017; POPESCU *et al.*, 2014; WRENSCH *et al.*, 2018).

A relação entre metabolismo lipídico e infecção por HCV afeta a homeostase como um todo. Na prática clínica é facilmente observada essa relação. Em biópsias de pacientes com hepatite C é notável o comprometimento hepático. Observa-se o aumento das gotículas lipídicas, caracterizando a esteatose (POPESCU *et al.*, 2014). O metabolismo lipídico tem papel fundamental no ciclo replicativo do HCV, por isso é uma das principais vias onde proteínas derivadas de genes com mutações se associam com impactos na evolução da doença (D'AVIGDOR *et al.*, 2019). Dentre os genes do hospedeiro que poderiam estar associados com a probabilidade de se desenvolver um quadro mais grave ou até mesmo com o sucesso de estabelecimento da infecção pelo HCV, destacam-se aqueles que codificam as apolipoproteínas, por exemplo a APOE.

A APOE se faz importante uma vez que está presente em partículas como de VLDL, de quilomícrons (QM) e de lipoproteína de densidade intermediária (IDL). Além disso, participa do processo de entrada do vírus na célula, na montagem e liberação da partícula viral. Essa proteína também pode “camuflar” o HCV e ser usada para escapar do reconhecimento pelo sistema imunológico do hospedeiro, favorecendo a progressão para a fase crônica. Com o tempo essa associação pode levar o paciente a comorbidades e sérios distúrbios lipídicos, além dos outros problemas já citados intrínsecos à infecção (GONG; CUN, 2019).

Dentro de condições fisiológicas normais, a APOE atua associada a lipoproteínas específicas, regulando o transporte de lipídios e o metabolismo entre o fígado e o tecido periférico, através do reconhecimento de receptores de superfície celular. APOE também tem ação antioxidante e propriedades anti-inflamatórias que modulam o sistema imunológico (DOSE *et al.*, 2016; GONG; CUN, 2019). Sua síntese e secreção ocorre principalmente por hepatócitos. No entanto, outras células no cérebro, baço, ovários, rins, músculos, pulmões e até mesmo macrófagos são responsáveis por cerca de 20 a 40% da produção de APOE (ORTH; BELLOSTA, 2012). Os seus variados pontos de produção refletem a vasta influência que essa proteína pode ter na manutenção da homeostase do organismo (MEGALE *et al.*, 2016).

Por consequência da sua produção e influência ubíquas, a APOE e suas diferentes isoformas são populares alvos de estudo em diferentes linhas de pesquisa. Vem sendo estudado, por exemplo, sua associação com envelhecimento, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (BAUM *et al.*, 2000; GOTTLIEB *et al.*, 2011; LEREN *et al.*, 1985; MEGALE *et al.*, 2016). A APOE, de acordo com as centenas de artigos publicados, é uma proteína de extrema relevância no contexto da infecção pelo HCV. São variados os momentos e aspectos da infecção que diversos experimentos corroboraram a hipótese da APOE ser uma peça-chave para o entendimento e prognóstico da hepatite C. Desde o

momento da entrada do vírus na célula até as consequências mais graves da cronificação, há trabalhos com fortes indícios da influência da APOE (ABONDIO *et al.*, 2019; CROUCHET; BAUMERT; SCHUSTER, 2017; GONG; CUN, 2019; MANNS *et al.*, 2017; MUELLER *et al.*, 2016; NASCIMENTO *et al.*, 2020).

Nesse trabalho buscamos agregar conceitos envolvidos na interação da APOE com HCV, trazendo informações relevantes sobre a estrutura e função da APOE, e como essa proteína atua em diferentes vias e é relevante no prognóstico de algumas doenças. Além disso, vamos abordar e expor principalmente pontos importantes onde APOE e HCV se influenciam, desde fontes de dados e implicações clínicas, possíveis desdobramentos no diagnóstico e prognóstico dos pacientes com hepatite C. Toda essa revisão foi feita tendo como base conhecimentos prévios presentes na literatura.

## 2 | OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo construir uma revisão narrativa compreendendo a APOE e sua relação com a hepatite C.

## 3 | METODOLOGIA

As fontes de informações usadas foram obtidas por meio de pesquisas nas plataformas *Google*, *Pubmed* e *Scielo*. O referencial teórico dessa revisão é em sua maior parte composta por artigos científicos, além de alguns boletins e *webpages* de órgãos oficiais. As referências foram organizadas no gerenciador *Mendeley*. As palavras-chave utilizadas foram pesquisadas nos idiomas português e inglês e são: APOE; HCV; hepatite C. Inicialmente foi feita uma análise superficial do material obtido para levantamento dos assuntos de maior relevância e organização da estrutura dos temas. Uma vez definida a organização dos temas, foi feita uma busca mais aprofundada para um melhor embasamento teórico dos itens e subitens abordados.

## 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Apolipoproteína E: Histórico e características

Entre 1973 e 1974 foi identificada uma APO rica em arginina e associada à VLDL diferente das registradas até aquele momento em humanos (HAVEL; KANE, 1973; SHORE *et al.*, 1974). Em 1973, foi descrito uma heterogeneidade dessa proteína, observada em ensaios cromatográficos (SHORE; SHORE, 1973). Em 1975, Utermann e cols. descreveram essa proteína e a nomearam de APOE e conseguiram melhores resultados para o entendimento da heterogeneidade (UTERMANN; JAESCHKE; MENZEL, 1975). Em 1982 foi publicado um trabalho que trazia a sequência completa dessa proteína, com 299 resíduos de aminoácidos e aproximadamente 34 KDa. Junto da análise de sua sequência,

observou-se que alguns exemplares de APOE possuíam diferentes aminoácidos em determinadas posições. Essas variações resultam nas diferentes isoformas da APOE que conhecemos atualmente (NASCIMENTO *et al.*, 2020; RALL; WEISGRABER; MAHLEY, 1982; ZANNIS *et al.*, 1982).

Em 1981, Zannis e Breslow propuseram um modelo de três alelos para explicar os padrões de faixas múltiplas. Com base na análise do gel de eletroforese 2D com APOE, obtiveram respostas que levaram a um grande avanço na compreensão da base genética dos polimorfismos de APOE. Os três alelos, designados como II, III e IV (hoje conhecidos como APOE  $\epsilon$ 2,  $\epsilon$ 3 e  $\epsilon$ 4, respectivamente), mostraram ter diferentes padrões de corrida em uma eletroforese 2D em gel de poli(acrilamida) e diferentes pontos isoeletrônicos. Esses resultados corroboraram com o trabalho de Shore de 1973, que apontou APOE como uma proteína heterogênea (ZANNIS; BRESLOW, 1981).

A APOE não é exclusiva de humanos. Também é encontrada em diversos animais vertebrados, incluindo mamíferos, répteis e peixes (HUEBBE; RIMBACH, 2017). Estudos mostraram que a APOE pertence à família PF01442. Tal família de proteínas é filogeneticamente antiga, com uma origem que vem de antes do surgimento do reino animal, uma vez que seres procarióticos possuem proteínas análogas ao grupo. Assim, vemos que a evolução dessa família vem de antes do ponto da árvore da vida que separa eucariotos e procariotos, corroborando para sua relevância no metabolismo. A família PF01442 é caracterizada como um grupo que possui APOs com diversas repetições de 22 resíduos de aminoácidos que formam um par de alfa-hélices. As proteínas APOA1 e APOA4 são outros exemplos de membros desta família (BABIN *et al.*, 1997; THE EUROPEAN BIOINFORMATICS INSTITUTE, [s.d.]; WILSON *et al.*, 1991).

O gene da APOE é polimórfico, ou seja, para um mesmo gene existe variantes já fixadas na população. As diferenças entre os alelos podem ocorrer por uma troca de nucleotídeo que irá desencadear um aminoácido diferente em uma determinada posição na proteína. Os três alelos principais da APOE humana são: E2, E3 e E4 (HUEBBE; RIMBACH, 2017; MCINTOSH *et al.*, 2012).

O gene *APOE* possui 3.598 nucleotídeos e está localizado no braço longo do cromossomo 19 (19q13.2) dentro do lócus *RELB* em um *cluster* com os genes *APOC1*, *APOC4* e *APOC2* (KEN-DROR *et al.*, 2010; NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2021; OLAISEN; TEISBERG; GEDDE-DAHL, 1982). Esse gene possui quatro éxons no total, onde no éxon 4 ocorrem os polimorfismos que caracterizam os alelos desse gene. Retirando-se os íntrons, restam 1.166 pb que compõem o RNA mensageiro (mRNA). A tradução desse mRNA pode gerar diferentes isoformas de APOE dependendo do alelo que o genoma do indivíduo carregue (ABONDIO *et al.*, 2019; NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2021; OJOPI; BERTONCINI; NETO, 2004).

Existem três alelos principais do gene *APOE* em humanos:  $\epsilon$ 2 presente em aproximadamente 8%,  $\epsilon$ 3 em aproximadamente 77% e  $\epsilon$ 4 em aproximadamente 15%

da população (BU, 2009). As diferenças entre esses alelos afetam diretamente a sequência de aminoácidos e a performance da proteína. Os polimorfismos Cys112Arg (rs429358) e Arg158Cys (rs7412) determinam as três principais isoformas, que são: APOE2 (112Cys/158Cys), APOE3 (112Cys/158Arg), que é a mais prevalente, e APOE4 (112Arg/158Arg). APOE também possui outras variantes considerados raros que estão sumindo da população:  $\epsilon$ 1,  $\epsilon$ 5 e  $\epsilon$ 7 (CROUCHET; BAUMERT; SCHUSTER, 2017; D'AVIGDOR *et al.*, 2019; FRIEDEN, 2015; MAILLY *et al.*, 1991; WRENSCH *et al.*, 2018; YAMAMURA; DONG; YAMAMOTO, 1999). São escassos os trabalhos que trazem a frequência dessas raras isoformas de APOE. Um estudo com amostras de sangue de 1269 indivíduos japoneses identificou apenas 0,1% de indivíduos que possuísem APOE  $\epsilon$ 5 e 0,7% com  $\epsilon$ 7 (MATSUNAGA *et al.*, 1995). Outro trabalho publicado em 1987 com 1209 indivíduos verificou a frequência dos alelos de APOE e encontraram 78,6% com alelo APOE  $\epsilon$ 3, 13,5% com  $\epsilon$ 4, 7,5% com  $\epsilon$ 2, 0,2% com  $\epsilon$ 5 e 0,2% com alelo  $\epsilon$ 1 (ORDOVAS *et al.*, 1987).

Vale ressaltar que um mesmo indivíduo pode ter circulante uma ou duas isoformas de APOE. Uma vez que humanos são seres diploides, possuem dois alelos de cada gene. Os genótipos podem variar entre homocigotos (dois alelos iguais) e heterocigotos (dois alelos diferentes). Assim, os seis genótipos principais são:  $\epsilon$ 2/ $\epsilon$ 2,  $\epsilon$ 3/ $\epsilon$ 3,  $\epsilon$ 4/ $\epsilon$ 4,  $\epsilon$ 2/ $\epsilon$ 3,  $\epsilon$ 2/ $\epsilon$ 4 e  $\epsilon$ 3/ $\epsilon$ 4.

Um fato interessante é que a numeração que distingue os polimorfismos de APOE não está relacionada com ordem de descoberta, e sim com o ponto isoelétrico. Na década de 80, estudos apontavam a heterogeneidade da APOE pelo seu ponto isoelétrico calculado por ensaios de eletroforese em gel de poliacrilamida. De acordo com a posição que a banda da isoforma ficava, elas eram enumeradas, dependendo do quão rápido ela migrasse no gel com relação a um padrão. Ficou determinado nos primeiros ensaios as bandas APOE II, III ou IV. Isso serviu para nomear as outras isoformas mais raras que foram descobertas mais tarde (WEISGRABER, 1994).

Por consequência desse parâmetro de nomenclatura, quando se estuda os polimorfismos da APOE é possível encontrar diferentes trocas de aminoácidos para explicar o que seria uma mesma isoforma. Isso acontece para APOE1. Há autores que descreveram APOE1 como portadora de 158ArgàCys/127GlyàAsp (WEISGRABER *et al.*, 1984), ou apenas portadora da troca 146LysàGlu (MANN *et al.*, 1989). Isso quer dizer que muitos autores tratam isoformas com diferentes polimorfismos, como se tivessem o mesmo nome, gerando confusão para os leitores. Um trabalho publicado em 1994 traz uma tabela com diferentes polimorfismos denominados da mesma forma por terem o mesmo ponto isoelétrico (WEISGRABER, 1994). Isso pode explicar o porquê de, segundo nosso conhecimento, não existir uma APOE6, mesmo existindo E5 e E7, pois apenas não existe uma isoforma que fique na posição 6 nos ensaios de ponto isoelétrico.

APOE é solúvel, monomérica e em  $\alpha$ -hélice. Possui 299 resíduos de aminoácidos,

peso total de 35,30 kDa e dois domínios funcionais (CHEN; LI; WANG, 2011; PRONTEIN DATA BANK, 2011). O domínio N-terminal (NT) vai do resíduo 1 ao 191, já o domínio C-terminal (CT) vai do resíduo 216 ao 299. Esses dois domínios são ligados por uma estrutura de dobradiça flexível. O NT possui capacidade de se ligar aos receptores de LDL (LDLR) e se liga de forma fraca a lipídeos. Além disso, essa ligação também depende do resíduo Arg-172 presente na dobradiça que liga os domínios NT e CT (MORROW *et al.*, 2000). Já o CT possui diferentes sítios de ligação a lipoproteínas, mas não se liga ao receptor. Assim, as afinidades desses domínios se complementam para que a APOE possa exercer sua função.

Os polimorfismos de cada isoforma afetam de forma sutil a estrutura desses domínios, mas ainda assim influenciam de forma significativa na afinidade. A troca de Cisteína por Arginina na posição 112 da APOE4 (rs429358TàC) leva a uma nova ponte salina formada por Glutamato da posição 109 e Arginina da 112, o que deixa a Arginina da posição 61 mais exposta que passa a interagir com o Glutamato na 255. Essa ponte salina é exclusiva da APOE4, ou seja, as outras isoformas não possuem tal interação de domínios. Assim, estudos apontaram que essa ponte interfere de forma crítica a performance da isoforma APOE4, fazendo com que ela seja um diferencial no contexto de algumas doenças (DONG *et al.*, 1994; FERNANDEZ *et al.*, 2019; MAHLEY; WEISGRABER; HUANG, 2009; WEISGRABER, 1994).

Essa alteração estrutural foi avaliada por modelo alternativo que usou cristalografia de raios-X e espectroscopia, levando ao entendimento de que APOE4 possui eficiência menor em relação a APOE3. APOE4 passa a ter uma ligação mais forte com LDLR prejudicando a internalização pelo fígado da gordura presente na lipoproteína associada. Além disso, enquanto APOE3 tem preferência por se associar a lipoproteína de alta densidade (HDL), APOE4 tem preferência por VLDL (CROUCHET; BAUMERT; SCHUSTER, 2017; MUELLER *et al.*, 2016).

Os polimorfismos de APOE3, por sua vez, levam a mudanças conformacionais onde os aminoácidos que formam cada domínio se alteram. O NT passa a ser contemplado do resíduo 1 ao 167, a região de dobradiça do resíduo 168 ao 205 e o CT do 206 ao 299. Esse diferencial proporciona uma conformação que leva a região principal que se liga ao LDLR a ter um desempenho melhor em sua atividade de interação (CHEN; LI; WANG, 2011).

O polimorfismo que caracteriza a APOE2 não gera uma modificação que afete de forma tão significativa a conformação da proteína, mas impacta sua função de forma relevante. A troca de Arginina por Cisteína na posição 158 (rs7412CàT) compromete a eficiência do sítio de ligação a LDLR que fica no NT. A Arginina 158 de APOE 3 e APOE4 se liga ao Aspartato da posição 154, mas em APOE2 a Cisteína na 158 não consegue fazer essa ligação. Dessa forma, o Aspartato 154 se liga com a Arginina da posição 150. No entanto, Arginina 150 tem uma influência importante no sítio de ligação a LDLR e a sua ligação com Aspartato 154 prejudica a capacidade desse sítio de exercer sua função



(MAHLEY; WEISGRABER; HUANG, 2009).

Estudos em humanos, primatas não humanos e ratos mostraram que a principal fonte de APOE plasmática total é o fígado. Os hepatócitos são as células com a maior taxa na produção e secreção de APOE, no entanto células de *Kupffer* e adipócitos também são capazes de sintetizá-la (DAWSON *et al.*, 1989; FRIEDMAN *et al.*, 1991). O segundo maior produtor de APOE total é o cérebro, principalmente pelos astrócitos. Também são encontradas taxas de produção na glândula adrenal, testículos, pele, rins, baço, tecido adiposo e macrófagos (BIOGPS, [s.d.]; HUANG; MAHLEY, 2014). Vale ressaltar que boa parcela da secreção de APOE em outros tecidos é regulada por uma necessidade local, então não interfere na APOE plasmática (IGNATIUS *et al.*, 1986; MASSIMI, 1999).

Ainda é muito limitado o conhecimento relacionado à regulação da transcrição do gene *APOE*. Mesmo que esse gene esteja em um *cluster* com genes de outras apolipoproteínas, eles são regulados de formas distintas, além de possuírem diferentes funções. A regulação da transcrição de *APOE* é altamente complexa e requer a interação de fatores de transcrição com promotores proximais, mas também com regiões regulatórias distais. Desde o século passado, por resultados de estudos *in vitro*, sabe-se que o gene *APOE* tem sua expressão controlada por regiões reguladoras presentes no promotor, que podem potencializar ou reprimir sua expressão (SMITH *et al.*, 1988). No entanto, em estudos *in vivo*, foi visto que o promotor não tem a capacidade de direcionar a transcrição do gene em quaisquer células na ausência dos *enhancers* (regiões distantes do gene, mas que influenciam na sua expressão). (SHIH *et al.*, 2000).

Já foram identificadas em camundongos transgênicos duas regiões de controle hepático no locus do gene *APOE* que regulam a expressão do gene *APOE* humano: HCR-1 e HCR-2. Esta sequência HCR-2 está localizada 27 kb a jusante do gene *APOE* e a 10 kb a jusante do *enhancer* HCR-1. A análise do sequenciamento de HCR-2 revelou que tem semelhança de 85% com HCR-1 (ALLAN; WALKER; TAYLOR, 1995). Existem outras regiões já identificadas que influenciam a expressão de APOE, mas ainda faltam estudos para que se tenha uma compreensão completa dos mecanismos. Como por exemplo, os dois multi-estimuladores 1 e 2 presentes no locus de *APOE* (ME.1 e ME.2). Estudos em macrófagos demonstraram que eles têm influência sobre o promotor do gene *APOE*, mas não foi confirmado isso em hepatócitos. Isto indica que existe uma regulação diferenciada na expressão desse gene entre diferentes células (TRUSCA *et al.*, 2011).

APOE é tida como uma proteína importante para o metabolismo como um todo. O fato de ela ser sintetizada e secretada por vários tecidos e diferentes tipos de células, além de estar em abundância no líquido intersticial, na linfa e no plasma, corrobora com a certeza da importância que essa proteína tem para a homeostase do organismo (HUANG, 2010; HUANG; MAHLEY, 2014; HUANG; MUCKE, 2012). APOE é uma proteína multifuncional. Sua relação com a manutenção da homeostase metabólica e desenvolvimento de diversas doenças vem sendo estudada por vários grupos de pesquisa pelo mundo. Hoje já é

comprovada sua importância para o funcionamento do metabolismo lipídico, dos processos de neuroproteção, na resposta do organismo contra agentes infecciosos. A atuação da APOE nesses e em outros contextos pode ter diferentes respostas dependendo de qual alelo o genoma do indivíduo carregue. A eficiência da APOE em suas funções, propensão ao desenvolvimento de quadros patológicos e diferentes prognósticos obtidos, terão influência direta e divergentes entre as isoformas dessa proteína (TUDORACHE; TRUSCA; GAFENCU, 2017).

#### 4.1.1 APOE no metabolismo lipídico

Os lipídios, tais como colesterol, triglicerídeos e fosfolipídios, são biomoléculas necessárias na produção de hormônios, composição da membrana celular, proteção contra choques mecânicos, manutenção da temperatura corporal, produção de energia, entre outros processos. Essas substâncias precisam ser carregadas de um lugar para outro por não serem solúveis no plasma. Para isso, existem as lipoproteínas que fazem esse importante e regulado papel de transferência de lipídeos. As lipoproteínas são macromoléculas formadas por lipídeos e por apolipoproteínas. O tipo de lipoproteína varia de acordo com a quantidade e tipo de lipídio que carrega, além da APO associada. A APOE faz parte da composição de VLDL, IDL, HDL, QM e Quilomícrons remanescentes (QMR), além de parte da HDL (DOSE *et al.*, 2016; PHILLIPS, 2014).

Os QM são gerados no intestino a partir da gordura e do colesterol da dieta, caracterizando a via exógena do metabolismo de lipídeos. Ao entrarem na circulação sistêmica, adquirem APOE à sua superfície. Os QM sofrem lipólise pela lipoproteína lipase (LPL) e formam QMR que vão sofrer depuração hepática após ligação mediada por APOE aos receptores de superfície celular, por exemplo, LDLR e proteoglicanos de heparansulfato (HSPG). Na via endógena, VLDLs são sintetizados e secretados pelo fígado. A LPL causa a liberação de ácidos graxos e a formação de IDL que podem ser eliminados pelo fígado, por captação mediada por APOE. A hidrólise completa de VLDL, que ocorre pela ação da LPL e a lipase hepática (LH), resulta na formação de LDL sem APOE (ou apenas com vestígios). LDL contém APOB-100 que medeia a sua absorção celular. Outro processo é o transporte reverso do colesterol que permite que o excesso de colesterol dos tecidos periféricos seja redirecionado para o fígado por meio de HDL que pode possuir APOE em sua composição (DOSE *et al.*, 2016; GETZ; REARDON, 2009).

Alguns trabalhos trazem que o polimorfismo presente na APOE pode influenciar na sua associação com lipoproteínas. APOE4 se associa preferencialmente com VLDL e APOE3 com HDL. Foi postulado que o NT, que contém o resíduo 112 em APOE, influencia a preferência da lipoproteína ao interagir com o domínio do terminal carboxila, que contém a região de ligação aos lipídeos (DONG *et al.*, 1994).

## 4.2 Ciclo infeccioso do HCV e sua relação com APOE

O HCV pertence à família *Flaviviridae* e gênero *Hepacivirus*, possuindo genoma de RNA fita simples e polaridade positiva de aproximadamente 9,6 Kb (ICTV, 2022). Seu genoma codifica uma poliproteína de aproximadamente 3 mil aminoácidos. Essa poliproteína passa por uma sequência de clivagens resultando em 4 proteínas estruturais (core, E1, E2 e p7) e 6 não-estruturais (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B) (TELLINGHUISEN *et al.*, 2007). As glicoproteínas E1 e E2 do envelope lipídico formam heterodímeros de superfície que permitem que o vírus se associe a LDL e VLDL do hospedeiro (ANDRÉ *et al.*, 2002; NIELSEN *et al.*, 2006). Essa importante estrutura formada pela associação entre o HCV e lipoproteínas é chamada de partícula lipoviral (LVP), e são críticas para o sucesso do ciclo infeccioso e evolução da hepatite C (CROUCHET; BAUMERT; SCHUSTER, 2017).

Essa associação decorre da afinidade de interação entre E1 e E2 do HCV e as APO, como por exemplo: APOA1, APOB-100, APOC e APOE. No caso da interação do HCV com APOE, trabalhos mostraram que E1 é a responsável por essa afinidade, onde E2 não é capaz de sozinha interagir com APOE ou com outras APO, mas é importante para interação do HCV com receptores do hospedeiro (MAZUMDAR *et al.*, 2011). A capacidade do HCV de se ligar a certas lipoproteínas permite que as LVPs tenham as mesmas propriedades biofísicas que as lipoproteínas desassociadas, aumentando o potencial infeccioso do HCV. Estudos com partículas de HCV produzidas em cultura de células confirmaram que LVPs tem baixa densidade, são ricas em colesterol e triglicerídeos, as APO continuam sendo reconhecidas por seus parceiros de interação e, por isso, o HCV se camufla no organismo como uma lipoproteína de baixa densidade comum e funcional (CROUCHET; BAUMERT; SCHUSTER, 2017; GASTAMINZA; KAPADIA; CHISARI, 2006; POPESCU *et al.*, 2014; WRENSCH *et al.*, 2018).

O LVP circulante, uma vez que entra no espaço de Disse (entre os capilares sinusóides e os hepatócitos), se depara com os hepatócitos (ORIÁ *et al.*, 2016). No início do processo a APOE presente na LVP se liga aos HSPGs e com proteínas da família de LDLR presentes na superfície celular. Esse processo permite que o LVP se ligue a superfície da célula, nesse momento ainda de forma fraca. Em experimentos, anticorpos específicos para APOE foram capazes de bloquear de forma eficiente a ligação do HCV com células Huh-7.5 e hepatócitos humanos em cultura (JIANG *et al.*, 2012; LEFÈVRE *et al.*, 2014). Corroborando com a importância da APOE para essa etapa do ciclo do HCV, trabalhos de Owen e cols. e Agnello e cols. demonstraram que APOE facilita a entrada do HCV por meio da interação com LDLR (AGNELLO *et al.*, 1999; OWEN *et al.*, 2009). A presença ou não de APOE na lipoproteína impacta bastante a infectividade da LVP. Um exemplo disso é o cenário de atuação da LPL. Essa proteína, presente na superfície endotelial dos capilares sanguíneos, tem a função de hidrolisar triglicerídeos, aumentando a densidade e diminuindo o tamanho da lipoproteína. Esse processo leva a mudanças das APO associadas, no caso em questão

as LVPs perdem as APOE associadas. Isso faz com que a capacidade da LVP de infectar células diminua de forma drástica (SHIMIZU *et al.*, 2010).

Após a interação de APOE com HSPGs e LDLR, há interação de APOE e APOB-100 com o receptor *scavenger* de classe B tipo I (SR-BI). Esse é um receptor natural de lipoproteínas que acaba se envolvendo no processo de entrada do HCV na célula por conta da capacidade desse vírus de estar camuflado na LVP (SCARSELLI *et al.*, 2002). A interação entre LVP e SR-BI induz a dissociação entre HCV e lipoproteína, levando a exposição da glicoproteína E2 de tal forma que esta interage diretamente com SR-BI e, concomitante a isso, E2 também se liga a *cluster of differentiation 81* (CD81) que é uma glicoproteína transmembrana da família das integrinas (ZAHID *et al.*, 2013). Mediante a isso, um complexo multirreceptor atua para promover a entrada do HCV para o interior da célula, como claudina 1, claudina 6, ocludinas, entre outras proteínas integrantes. Após essa forte fixação da partícula viral à superfície celular, a entrada do vírus ocorre por endocitose mediada por clatrina. (MANNIS *et al.*, 2017; ZEISEL; FELMLEE; BAUMERT, 2013).

Um trabalho publicado em 2016 apontou diferenças para o papel da APOE na infectividade e replicação do HCV dependendo de seu genótipo. Resultados indicaram que APOE desempenha um papel importante na infectividade nos subtipos 1b e 2a do HCV e na replicação do HCV 1b, mas não na replicação do HCV 2a. Esses resultados indicam que pode existir uma diferença na eficiência na relação de APOE e HCV de acordo com o genótipo do vírus. No entanto, mais estudos são necessários para melhor elucidar essas suposições (JUNG *et al.*, 2016).

Após o processo de replicação viral, ocorre o complexo e coordenado processo de montagem das partículas virais. A montagem da partícula do HCV se inicia na superfície das membranas do RE rugoso, nas proximidades de gotículas de lipídios (precursor de lipoproteínas) (MIYANARI *et al.*, 2007). Uma vez formado, o nucleocapsídeo brota da membrana do retículo englobado pela região onde E1 e E2 estão ancoradas. Depois disso, se associam com gotículas de lipídios nascentes para adquirir APOE e APOC na sua estrutura. Muito ainda é necessário estudar para que se entenda por completo todas as etapas desse processo (WRENSCH *et al.*, 2018).

O processo de liberação da partícula viral madura ocorre por exocitose, aproveitando a via de saída de VLDL dos hepatócitos para a corrente sanguínea. Outra possibilidade é a partícula viral ser transmitida para células vizinhas e iniciar um novo ciclo infeccioso perpetuando a infecção (DUSTIN *et al.*, 2016) Já foi visto que nesse processo a maquinaria de morfogênese do VLDL é um ponto primordial. Nos hepatócitos, o precursor de VLDL, que é resultado da lipidação de APOB-100 feita pela ação da proteína de transferência de triglicerídeos microsossomais (MTP), é enriquecido em lipídeos e se associa a APOE e APOC. Esse mecanismo de incorporação de APO não é bem elucidado até hoje (FUKUHARA *et al.*, 2015). No entanto, um trabalho publicado em 2009 mostrou a grande relevância de APOE nessa via, até mesmo maior que a de APOB-100 (JIANG; LUO, 2009).

Em um estudo de Jiang & Luo, publicado em 2009, realizou-se um *knockout* de APOE por RNA de interferência (siRNA) que levou a baixa produção de partículas de HCV. No entanto, a introdução de APOE expressa de forma ectópica restaurou o déficit na produção de HCV gerado pela inibição da expressão de APOE endógena. Em contraste, anticorpos específicos para APOB e até mesmo *knockout* de APOB por siRNA não tiveram efeito tão significativo na infeciosidade e produção de HCV, sugerindo que APOB não desempenha um papel tão crítico no ciclo replicativo do HCV quanto APOE (JIANG; LUO, 2009). Outros trabalhos apontaram que APOB e APOE tem o mesmo grau de significância para a montagem e liberação do HCV, mas todos concluíram que a APOE é de fato primordial (FUKUHARA *et al.*, 2014, 2015). E ainda, experimentos com células em cultura deficientes na produção de APO, como hepatócitos murinos imortalizados, células da linhagem Vero e 293T se mostraram eficientes em produzir partículas de HCV após a indução da expressão ectópica de APOE (DA COSTA *et al.*, 2012; LONG *et al.*, 2011; MURAYAMA *et al.*, 2016).

Além disso, foi visto que a depleção de APOE não afeta a formação do nucleocapsídeo do HCV, sugerindo que APOE atua em uma etapa posterior a montagem dessa estrutura. E ainda já foi visto, em ensaios de microscopia, APOB, APOE e E1E2 colocalizados no RE, sugerindo que essas proteínas atuam em uma etapa inicial da maturação da partícula do HCV, além da associação de APOE com E1E2 no LVP (BOYER *et al.*, 2014). É importante ressaltar que a APOE interage com E2 do HCV, onde essa interação não exige nenhuma outra proteína viral ou do hospedeiro para ocorrer. Isso pode sugerir que APOE desempenhe um papel importante na maturação das partículas de HCV pela interação direta com as glicoproteínas do envelope viral. Certamente isso não exclui que tenham mais parceiros de interação envolvidos no processo (LEE *et al.*, 2014).

APOA, APOC e APOE possuem a capacidade de se dissociar de uma lipoproteína e se reassociar a outra facilmente devido à presença de estruturas  $\alpha$ -hélices anfipáticas (SUNDARAM; YAO, 2012). Estudos apontaram que a expressão de sequências curtas contendo  $\alpha$ -hélices anfipáticas derivadas de APO e de outras proteínas, como o peptídeo humano antimicrobiano catelicidina e de NS1 de outros vírus da família *Flaviviridae*, são o suficiente para promover a produção de partículas infecciosas de HCV em células *knockout* para APOE. Dessa forma, por mais que *in vivo* a APOE pareça ser a atuante nessa etapa da montagem, ela pode ser substituída por proteínas que tenham domínios com estruturas e propriedades semelhantes (FUKUHARA *et al.*, 2014, 2017; PUIG-BASAGOITI *et al.*, 2016).

Uma outra interação importante nesse evento e que foi publicada em 2010, é entre APOE e NS5A. A relevância da interação APOE-NS5A para a infecção viral foi confirmada por estudos de coimunoprecipitação e colocalização com essas proteínas em um sistema modelo de cultura de células infectadas pelo HCV (BENGA *et al.*, 2010). Complementando esse achado, um outro trabalho do mesmo ano identificou o fragmento da APOE que é responsável por essa interação. A análise de mutagênese identificou que o domínio da  $\alpha$ -hélice CT da APOE é importante para a ligação com NS5A. O domínio de ligação ao

receptor da porção NT e os últimos 20 aminoácidos CT de APOE são dispensáveis para a interação com NS5A, sendo relevante a porção entre os aminoácidos 205 e 280 da APOE. Deleções nessa região, além de impedir a interação, levaram a uma baixa na produção de partículas de HCV, indicando que essa associação é importante para a montagem do vírus. Além disso, foram feitos testes com as mais recorrentes isoformas de APOE (E2, E3 e E4), as quais não mostraram afetar de forma significativa essa interação. Dessa forma, essas três isoformas de APOE são igualmente compatíveis com a montagem do HCV. Isso já era de se esperar uma vez que o local dos polimorfismos que caracterizam e diferenciam essas isoformas estão localizados na porção NT (aminoácidos 112 e 158) que, como já foi dito, não interfere na interação de APOE com NS5A (CUN; JIANG; LUO, 2010).

O HCV pode se disseminar por uma transmissão direta célula a célula, além da sua associação com VLDL e liberação por exocitose (LINDENBACH; RICE, 2013). Alguns trabalhos observaram que APOE é fundamental para esse processo. Foi visto que a infecção de HCV em direção às células receptoras ocorre apenas se as células originais do HCV expressarem APOE, demonstrando que as células que geram novas partículas desse vírus e não expressam APOE não poderiam mediar a transmissão intercelular de HCV, sugerindo que APOE está envolvida no processo de transmissão do HCV entre as células (HUEGING *et al.*, 2014). Ademais, foi visto que a migração intercelular do HCV é comprometida se é silenciada a expressão de APOE nas células de onde partem os vírus, mas que esse processo não é influenciado se a expressão de APOB for silenciada (GONDAR *et al.*, 2015).

## 4.3 Influência da APOE na Hepatite C

### 4.3.1 APOE colabora camuflando o HCV do sistema imunológico

Um indivíduo infectado por HCV terá diversas quasiespécies em seu organismo. Por conta da alta frequência de mutações que ocorre e se mantém no genoma viral, acaba sendo grande a diversidade genética e, conseqüentemente, fenotípica em um mesmo paciente. Isso permite que o vírus escape com certa facilidade do reconhecimento pelo sistema imunológico e dificulta a formulação de vacinas eficazes. Até em situações onde existam anticorpos neutralizantes circulando, as partículas virais conseguem se camuflar por estarem associados a lipoproteínas (FAUVELLE *et al.*, 2016; GAL-TANAMY *et al.*, 2008).

A participação da APOE nessa capacidade do HCV de passar praticamente despercebido pelo reconhecimento imunológico se dá de diferentes formas. Uma é o processo de transferência direta entre células das partículas virais que, como vimos, é dependente da atuação de APOE. Nesse processo o vírus não chega a cair na corrente sanguínea ou fica no meio intersticial onde poderia entrar em contato com alguma célula de

reconhecimento ou com anticorpos neutralizantes.

Além disso, diferentes publicações apontaram que a APOE da superfície dos LVPs, além de ter função de facilitar a entrada do HCV na célula, também camufla o HCV de tal forma que a associação de APOE com as proteínas presentes no envelope viral camufla os epítomos alvos. Por consequência, o HCV consegue escapar das vias de defesa da imunidade inata e adquirida, dificultando muito sua eliminação e contribuindo para a cronificação e acúmulo de complicações hepáticas. Dessa forma, um paciente que expresse uma APOE funcional terá maior dificuldade de chegar ao *clearance* viral (BANKWITZ *et al.*, 2017; FAUVELLE *et al.*, 2016).

#### 4.3.2 *Influência dos diferentes alelos de APOE na evolução da hepatite*

C

O gene *APOE* pode se apresentar com diferentes alelos que codificam proteínas distintas entre si. Essa pequena modificação estrutural da *APOE* impacta na eficiência dessa proteína. Entre os três alelos de *APOE* mais recorrentes na população ( $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$  e  $\epsilon 4$ ), o alelo  $\epsilon 4$  é o que codifica a proteína com a diferença conformacional e funcional mais discrepante das outras. As características estruturais e particularidades metabólicas de cada isoforma impactam de forma significativa sua função, o que faz com que os indivíduos que carreguem o alelo  $\epsilon 4$  do gene *APOE* terem uma maior probabilidade de desenvolver determinadas doenças, impactando de forma ruim na longevidade. No entanto, no contexto da hepatite C, carregar esse alelo é uma vantagem, pois a presença da *APOE4* ajuda a proteger o paciente infectado com HCV de desenvolver um quadro mais agressivo da doença. Enquanto o alelo  $\epsilon 2$  está associado com o rápido *clearance* viral e um baixo risco de cronificação, o  $\epsilon 3$ , que é o alelo selvagem, no contexto da hepatite C é o de pior prognóstico (HISHIKI *et al.*, 2010). É interessante perceber que os mesmos motivos que fazem do alelo  $\epsilon 4$  do *APOE* um indicador de mau prognóstico que aumenta a chance de o indivíduo desenvolver e ter dificuldades no tratamento de diversas doenças, também o faz ser um bom prognóstico para os pacientes com hepatite C. O fato de o HCV ser dependente da *APOE* em diversos momentos do seu ciclo infeccioso, faz com que uma isoforma de *APOE* que não exerça suas funções de forma eficiente ou que tenha alguma diferença conformacional que influencie nas interações com seus parceiros, seja um fator que comprometa a evolução e sucesso na infecção.

Um trabalho publicado em 2002 demonstrou que entre os 65 pacientes com hepatite C crônica com menor comprometimento hepático, 20% possuíam o alelo  $\epsilon 4$  do *APOE*, e entre os 46 pacientes com hepatite C mais agressiva apenas 6,5% carregavam esse alelo. Esses dados indicaram que o alelo  $\epsilon 3$  pode ter um efeito protetor contra lesões hepáticas (WOZNIAK *et al.*, 2002).

Já em 2003, Muller e cols. mostraram em um estudo com pacientes com hepatite C crônica que a frequência de *APOE*  $\epsilon 4$  era significativamente baixa nesse grupo. Em

outro trabalho, Muller e cols. sugeriram que enquanto APOE  $\epsilon$ 4 tem um papel protetor nesse contexto, APOE  $\epsilon$ 3 leva a um maior risco de cronificação e evolução para formas mais graves da doença. Ele mostrou em seu estudo com pacientes com hepatite C crônica uma alta frequência de  $\epsilon$ 4 em pacientes não cirróticos, o que sustenta a hipótese de ação protetora contra a infecção pelo HCV (MUELLER *et al.*, 2003, 2016). Junto a isso, outros trabalhos associam a APOE  $\epsilon$ 3 com rápida progressão de fibrose em pacientes HCV-positivos crônicos. Como o trabalho de Fabris e cols. que afirmou que a base genética da APOE está altamente relacionada com variabilidade da progressão da hepatite C para cada paciente (FABRIS *et al.*, 2011).

Corroborando com esses dados, um estudo publicado em 2019 feito com 299 pacientes HCV-positivos que nunca passaram por tratamento, mostrou que a frequência de APOE  $\epsilon$ 4 é maior nos pacientes que chegaram ao *clearance* viral espontâneo (12,4%) do que nos pacientes que evoluíram para a hepatite C crônica (7,3%) (GONZALEZ-ALDACO *et al.*, 2019).

Quando se compara o grau de fibrose e danos hepáticos em pacientes com hepatite C crônica homocigotos para APOE  $\epsilon$ 3 com os que carregam APOE  $\epsilon$ 4, a taxa de dano se mostrou ser maior que o dobro em pacientes APOE  $\epsilon$ 3 do que em  $\epsilon$ 4. Ou seja, a forma selvagem da proteína é uma vantagem para que o vírus tenha sucesso em seu ciclo (CHIBA-FALEK *et al.*, 2012).

No levantamento bibliográfico realizado para o embasamento dessa revisão, encontramos um trabalho que relaciona pacientes brasileiros com hepatite C e APOE. Neste trabalho 179 pacientes tiveram o genótipo da APOE analisado e foi encontrada maior prevalência da APOE3 (67,3%). Além disso, a APOE4 protegeu contra progressão da doença hepática e do grau de inflamação de pacientes HCV-positivos (NASCIMENTO *et al.*, 2021).

Assim, mais estudos são necessários. Considerando a diversidade genotípica dos brasileiros, estudos amplos nesse nicho agregariam muito valor e confiabilidade na relação APOE-hepatite C. Um fato que reforça essa necessidade de mais estudos com brasileiros é que dados da tese de Nascimento sugerem que ser portador de APOE2 aumenta o risco de pacientes na fase crônica da hepatite C de desenvolver cirrose hepática. Além disso, a prevalência encontrada dos alelos de APOE no seu estudo com 179 pacientes com hepatite C crônica, difere muito dos dados mundiais. Foi quantificado para os alelos  $\epsilon$ 3 e  $\epsilon$ 4 uma prevalência de 67,3% e 15,6%, respectivamente. E, de forma inesperada, E2 foi a segunda mais prevalente, com 17,1%. São necessários mais estudos em pacientes brasileiros para esclarecer essa relação de APOE2 e aumentar o número de indivíduos visando gerar uma prevalência mais representativa (NASCIMENTO, 2020).

A relação entre APOE e HCV tem importância em todo o ciclo infeccioso e na evolução da doença e, além disso, tem implicações no desenvolvimento de novos métodos de tratamento e no desenvolvimento de vacinas contra a hepatite C. Entender melhor como



ocorre, onde ocorre e a relevância que tem a interação entre HCV e APOE para o sucesso da infecção, permite descobrir novos alvos para direcionar a ação de antivirais e vacinas. Por mais que existam os antivirais de ação direta (DAAs), que são hoje o tratamento mais avançado e com melhores resultados, é necessário o desenvolvimento de ferramentas terapêuticas que permitam uma resposta virológica sustentada (RVS) em maior número de pacientes, visto que alguns ainda não atingem este objetivo mesmo com diferentes combinações de antivirais. Ter apenas as proteínas do vírus como alvo é preocupante, uma vez que a frequência de mutação é alta e gera grande variabilidade, afetando diretamente no sucesso do tratamento. Assim, novos alvos além do vírus são uma boa escolha no desenvolvimento de novos tratamentos.

Com base nos estudos que mostraram que a APOE tem a capacidade de camuflar o HCV no sistema imunológico e ainda é importante na entrada do vírus na célula, além da atuação de APOB, desenvolveram o Avasimibe. Esse fármaco é um inibidor do transporte de lipídios, clinicamente aprovado, que leva a uma diminuição da liberação de APOB e APOE. O Avasimibe se mostrou eficaz em infecções por diversos genótipos do HCV (HU *et al.*, 2017). Ainda é necessário investir em estudos que pesquisem sobre a relação de APOE com HCV e quais os parceiros de interação participam do processo infeccioso. Com esse conhecimento bem fundamentado será mais fácil eleger os alvos mais eficazes para tentar o desenvolvimento de fármacos e vacinas contra hepatite C.

## 5 | CONCLUSÃO

Com essa revisão conseguimos entender como as diferenças entre os alelos do gene *APOE* influenciam na estrutura e função das isoformas da proteína e correlacionar isso ao seu efeito na hepatite C. Compilamos diferentes trabalhos que corroboraram com a importância dessa proteína no sucesso da infecção pelo HCV e com a necessidade de mais estudos - biomoleculares, genéticos e populacionais – da relação de APOE e suas isoformas com a evolução da doença. Inclusive, estudos de grupos de brasileiros se fazem necessários para um melhor esclarecimento da importância de APOE dentro do perfil dos pacientes do Brasil e como um possível alvo no desenvolvimento de fármacos e vacinas para combater a hepatite C.

## REFERÊNCIAS

ABONDIO, P. et al. The genetic variability of APOE in different human populations and its implications for longevity. **Genes**, v. 10, n. 3, p. 1–31, 2019.

AGNELLO, V. et al. Hepatitis C virus and other Flaviviridae viruses enter cells via low density lipoprotein receptor. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, n. 22, p. 12766–12771, 26 out. 1999.

ALLAN, C. M.; WALKER, D.; TAYLOR, J. M. Evolutionary Duplication of a Hepatic Control Region in the Human Apolipoprotein E Gene Locus. **Journal of Biological Chemistry**, v. 270, n. 44, p. 26278–26281, nov. 1995.

ANDRÉ, P. et al. Characterization of Low- and Very-Low-Density Hepatitis C Virus RNA-Containing Particles. **Journal of Virology**, v. 76, n. 14, p. 6919–6928, 15 jul. 2002.

BABIN, P. J. et al. Both apolipoprotein E and A-I genes are present in a nonmammalian vertebrate and are highly expressed during embryonic development. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 94, n. 16, p. 8622–8627, 5 ago. 1997.

BANKWITZ, D. et al. Maturation of secreted HCV particles by incorporation of secreted ApoE protects from antibodies by enhancing infectivity. **Journal of Hepatology**, v. 67, n. 3, p. 480–489, set. 2017.

BAUM, L. et al. Apolipoprotein E isoforms in Alzheimer's disease pathology and etiology. **Microscopy Research and Technique**, v. 50, n. 4, p. 278–281, 15 ago. 2000.

BENGA, W. J. A. et al. Apolipoprotein E interacts with hepatitis C virus nonstructural protein 5A and determines assembly of infectious particles. **Hepatology**, v. 51, n. 1, p. 43–53, jan. 2010.

BIOGPS. **APOE (apolipoprotein E)**. Disponível em: <<http://biogps.org/#goto=genereport&id=348>>. Acesso em: 15 mar. 2021.

BORGIA, S. M. et al. Identification of a Novel Hepatitis C Virus Genotype From Punjab, India: Expanding Classification of Hepatitis C Virus Into 8 Genotypes. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 218, n. 11, p. 1722–1729, 20 out. 2018.

BOYER, A. et al. The Association of Hepatitis C Virus Glycoproteins with Apolipoproteins E and B Early in Assembly Is Conserved in Lipoviral Particles. **Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 27, p. 18904–18913, jul. 2014.

BU, G. Apolipoprotein E and its receptors in Alzheimer's disease: pathways, pathogenesis and therapy. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 10, n. 5, p. 333–344, 2 maio 2009.

CAMPIOTTO, S. et al. Geographic distribution of hepatitis C virus genotypes in Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, n. 1, p. 41–49, jan. 2005.

CHEN, J.; LI, Q.; WANG, J. Topology of human apolipoprotein E3 uniquely regulates its diverse biological functions. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 36, p. 14813–14818, 6 set. 2011.

CHIBA-FALEK, O. et al. Pleiotropy and allelic heterogeneity in the TOMM40-APOE genomic region related to clinical and metabolic features of hepatitis C infection. **Human Genetics**, v. 131, n. 12, p. 1911–1920, 17 dez. 2012.

CHOO, Q. 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. 359–362, 21 abr. 1989.

CROUCHET, E.; BAUMERT, T. F.; SCHUSTER, C. Hepatitis C virus–apolipoprotein interactions: molecular mechanisms and clinical impact. **Expert Review of Proteomics**, v. 14, n. 7, p. 593–606, 2017.

CUN, W.; JIANG, J.; LUO, G. The C-Terminal  $\alpha$ -Helix Domain of Apolipoprotein E Is Required for Interaction with Nonstructural Protein 5A and Assembly of Hepatitis C Virus. **Journal of Virology**, v. 84, n. 21, p. 11532–11541, 1 nov. 2010.

CUNHA, A. R. C. DA et al. **Boletim Epidemiológico Hepatites Virais I 2022**. [s.l.: s.n.].

D'AVIGDOR, W. M. H. et al. Virus Genotype-Dependent Transcriptional Alterations in Lipid Metabolism and Inflammation Pathways in the Hepatitis C Virus-infected Liver. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 10596, 22 dez. 2019.

DA COSTA, D. et al. Reconstitution of the Entire Hepatitis C Virus Life Cycle in Nonhepatic Cells. **Journal of Virology**, v. 86, n. 21, p. 11919–11925, 1 nov. 2012.

DAWSON, P. A. et al. Quantification and regulation of apolipoprotein E expression in rat Kupffer cells. **Journal of lipid research**, v. 30, n. 3, p. 403–13, mar. 1989.

DONG, L. M. et al. Human apolipoprotein E. Role of arginine 61 in mediating the lipoprotein preferences of the E3 and E4 isoforms. **Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 35, p. 22358–22365, set. 1994.

DOSE, J. et al. APOE genotype and stress response - a mini review. **Lipids in Health and Disease**, v. 15, n. 1, p. 121, 25 dez. 2016.

DUSTIN, L. B. et al. Hepatitis C virus: life cycle in cells, infection and host response, and analysis of molecular markers influencing the outcome of infection and response to therapy. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 22, n. 10, p. 826–832, out. 2016.

FABRIS, C. et al. Apolipoprotein E genotypes modulate fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C and persistently normal transaminases. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 26, n. 2, p. 328–333, fev. 2011.

FAUVELLE, C. et al. Apolipoprotein E Mediates Evasion From Hepatitis C Virus Neutralizing Antibodies. **Gastroenterology**, v. 150, n. 1, p. 206–217.e4, jan. 2016.

FERNANDEZ, C. G. et al. The Role of APOE4 in Disrupting the Homeostatic Functions of Astrocytes and Microglia in Aging and Alzheimer's Disease. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 11, 11 fev. 2019.

FRIEDEN, C. ApoE: The role of conserved residues in defining function. **Protein Science**, v. 24, n. 1, p. 138–144, 2015.

FRIEDMAN, G. et al. Apolipoprotein E is secreted by cultured lipocytes of the rat liver. **Journal of lipid research**, v. 32, n. 1, p. 107–14, jan. 1991.

FUKUHARA, T. et al. Roles of Lipoproteins and Apolipoproteins in Particle Formation of Hepatitis C Virus. **Trends in Microbiology**, v. 23, n. 10, p. 618–629, out. 2015.

GAL-TANAMY, M. et al. In vitro selection of a neutralization-resistant hepatitis C virus escape mutant. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 49, p. 19450–19455, 9 dez. 2008.

GASTAMINZA, P.; KAPADIA, S. B.; CHISARI, F. V. Differential Biophysical Properties of Infectious Intracellular and Secreted Hepatitis C Virus Particles. **Journal of Virology**, v. 80, n. 22, p. 11074–11081, 1 nov. 2006.

- GETZ, G. S.; REARDON, C. A. Apoprotein E as a lipid transport and signaling protein in the blood, liver, and artery wall. **Journal of Lipid Research**, v. 50, p. S156–S161, 2009.
- GONDAR, V. et al. Apolipoprotein E, but Not Apolipoprotein B, Is Essential for Efficient Cell-to-Cell Transmission of Hepatitis C Virus. **Journal of Virology**, v. 89, n. 19, p. 9962–9973, 1 out. 2015.
- GONG, Y.; CUN, W. The Role of ApoE in HCV Infection and Comorbidity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 8, p. 2037, 25 abr. 2019.
- GONZALEZ-ALDACO, K. et al. Hepatitis C virus clearance and less liver damage in patients with high cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol and APOE  $\epsilon$  4 allele. **World Journal of Gastroenterology**, v. 25, n. 38, p. 5826–5837, 14 out. 2019.
- GOTTLIEB, M. G. V. et al. Envelhecimento e longevidade no Rio Grande do Sul: um perfil histórico, étnico e de morbi-mortalidade dos idosos. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 14, n. 2, p. 365–380, jun. 2011.
- HAVEL, R. J.; KANE, J. P. Primary Dysbetalipoproteinemia: Predominance of a Specific Apoprotein Species in Triglyceride-Rich Lipoproteins. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 70, n. 7, p. 2015–2019, 1 jul. 1973.
- HISHIKI, T. et al. Infectivity of Hepatitis C Virus Is Influenced by Association with Apolipoprotein E Isoforms. **Journal of Virology**, v. 84, n. 22, p. 12048–12057, 15 nov. 2010.
- HU, L. et al. Avasimibe: A novel hepatitis C virus inhibitor that targets the assembly of infectious viral particles. **Antiviral Research**, v. 148, p. 5–14, dez. 2017.
- HUANG, Y.  $\beta$ -independent roles of apolipoprotein E4 in the pathogenesis of Alzheimer's disease. **Trends in Molecular Medicine**, v. 16, n. 6, p. 287–294, jun. 2010.
- HUANG, Y.; MAHLEY, R. W. Apolipoprotein E: Structure and function in lipid metabolism, neurobiology, and Alzheimer's diseases. **Neurobiology of Disease**, v. 72, p. 3–12, dez. 2014.
- HUANG, Y.; MUCKE, L. Alzheimer Mechanisms and Therapeutic Strategies. **Cell**, v. 148, n. 6, p. 1204–1222, mar. 2012.
- HUEBBE, P.; RIMBACH, G. Evolution of human apolipoprotein E (APOE) isoforms: Gene structure, protein function and interaction with dietary factors. **Ageing Research Reviews**, v. 37, p. 146–161, 2017.
- HUEGING, K. et al. Apolipoprotein E Codetermines Tissue Tropism of Hepatitis C Virus and Is Crucial for Viral Cell-to-Cell Transmission by Contributing to a Postenvelopment Step of Assembly. **Journal of Virology**, v. 88, n. 3, p. 1433–1446, 1 fev. 2014.
- ICTV. **Family: Flaviviridae**. Disponível em: <<https://ictv.global/report/chapter/flaviviridae/flaviviridae>>. Acesso em: 20 dez. 2022.
- IGNATIUS, M. J. et al. Expression of apolipoprotein E during nerve degeneration and regeneration. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 83, n. 4, p. 1125–1129, 1 fev. 1986.

JIANG, J. et al. Hepatitis C Virus Attachment Mediated by Apolipoprotein E Binding to Cell Surface Heparan Sulfate. **Journal of Virology**, v. 86, n. 13, p. 7256–7267, 1 jul. 2012.

JIANG, J.; LUO, G. Apolipoprotein E but Not B Is Required for the Formation of Infectious Hepatitis C Virus Particles. **Journal of Virology**, v. 83, n. 24, p. 12680–12691, 2009.

JUNG, B.-K. et al. Roles of human apolipoprotein E in the infectivity and replication of hepatitis C virus genotype 2a. **Journal of Microbiology**, v. 54, n. 6, p. 451–458, 27 jun. 2016.

KAMEDA, K.; CORRÊA, M. C. D. V.; CASSIER, M. A incorporação do teste diagnóstico baseado na amplificação de ácidos nucleicos (NAT) para triagem de sangue no SUS: arranjos tecnológicos para a nacionalização do “NAT brasileiro”. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 28, n. 1, 24 maio 2018.

KEN-DROR, G. et al. APOE/C1/C4/C2 Gene Cluster Genotypes, Haplotypes and Lipid Levels in Prospective Coronary Heart Disease Risk Among UK Healthy Men. **Molecular Medicine**, v. 16, n. 9–10, p. 389–399, 20 set. 2010.

LEE, J.-Y. et al. Apolipoprotein E Likely Contributes to a Maturation Step of Infectious Hepatitis C Virus Particles and Interacts with Viral Envelope Glycoproteins. **Journal of Virology**, v. 88, n. 21, p. 12422–12437, 1 nov. 2014.

LEFÈVRE, M. et al. Syndecan 4 Is Involved in Mediating HCV Entry through Interaction with Lipoviral Particle-Associated Apolipoprotein E. **PLoS ONE**, v. 9, n. 4, p. e95550, 21 abr. 2014.

LEREN, T. P. et al. Increased frequency of the apolipoprotein E-4 isoform in male subjects with multifactorial hypercholesterolemia. **Clinical genetics**, v. 27, n. 5, p. 458–62, maio 1985.

LINDENBACH, B. D.; RICE, C. M. The ins and outs of hepatitis C virus entry and assembly. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, n. 10, p. 688–700, 10 out. 2013.

LONG, G. et al. Mouse Hepatic Cells Support Assembly of Infectious Hepatitis C Virus Particles. **Gastroenterology**, v. 141, n. 3, p. 1057–1066, set. 2011.

LUNETTA, A. C. F & LUÍS, M. A. V. Álcool, Drogas e Comportamentos de Risco Entre Pacientes Ambulatoriais com hepatite C em Hospital Universitário. **Rev. enferm. UERJ.**, v. 16, n. 4, p. 538–544, 2008.

MAHLEY, R. W.; WEISGRABER, K. H.; HUANG, Y. Apolipoprotein E: structure determines function, from atherosclerosis to Alzheimer’s disease to AIDS. **Journal of Lipid Research**, v. 50, p. S183–S188, 2009.

MAILLY, F. et al. Characterization of a new apolipoprotein E5 variant detected in two French-Canadian subjects. **Journal of lipid research**, v. 32, n. 4, p. 613–20, abr. 1991.

MANN, W. A. et al. Apolipoprotein E-1Harrisburg: a new variant of apolipoprotein E dominantly associated with type III hyperlipoproteinemia. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism**, v. 1005, n. 3, p. 239–244, out. 1989.

MANNS, M. P. et al. Hepatitis C virus infection. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, n. 1, p. 17006, 21 dez. 2017.

MASSIMI, M. Differential expression of apolipoprotein E messenger RNA within the rat liver lobule determined by in situ hybridization. **Hepatology**, v. 29, n. 5, p. 1549–1555, 1999.

MATSUNAGA, A. et al. Population frequency of apolipoprotein E5 (Glu3-->Lys) and E7 (Glu244-->Lys, Glu245-->Lys) variants in western Japan. **Clinical genetics**, v. 48, n. 2, p. 93–9, ago. 1995.

MAZUMDAR, B. et al. Hepatitis C virus E1 envelope glycoprotein interacts with apolipoproteins in facilitating entry into hepatocytes. **Hepatology**, v. 54, n. 4, p. 1149–1156, out. 2011.

MCINTOSH, A. M. et al. The Apolipoprotein E (APOE) Gene Appears Functionally Monomorphic in Chimpanzees (Pan troglodytes). **PLoS ONE**, v. 7, n. 10, p. e47760, 24 out. 2012.

MEGALE, R. Z. et al. Apolipoprotein E polymorphism and functional disability in Brazilian elders: the Bambuí Health and Aging Study. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, n. 2, 2016.

MILLMAN, A. J.; NELSON, N. P.; VELLOZZI, C. Hepatitis C: Review of the Epidemiology, Clinical Care, and Continued Challenges in the Direct-Acting Antiviral Era. **Current Epidemiology Reports**, v. 4, n. 2, p. 174–185, 20 jun. 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de aconselhamento em hepatites virais**. [s.l: s.n.]. v. 1

MIYANARI, Y. et al. The lipid droplet is an important organelle for hepatitis C virus production. **Nature Cell Biology**, v. 9, n. 9, p. 1089–1097, 26 set. 2007.

MORROW, J. A. et al. Effect of Arginine 172 on the Binding of Apolipoprotein E to the Low Density Lipoprotein Receptor. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 4, p. 2576–2580, jan. 2000.

MUELLER, T. et al. Apolipoprotein E4 allele is associated with poor treatment response in hepatitis C virus (HCV) genotype 1. **Hepatology**, v. 38, n. 6, p. ajhep09042, dez. 2003.

MUELLER, T. et al. Apolipoprotein E allele frequencies in chronic and self-limited hepatitis C suggest a protective effect of APOE4 in the course of hepatitis C virus infection. **Liver International**, v. 36, n. 9, p. 1267–1274, set. 2016.

MURAYAMA, A. et al. Completion of the Entire Hepatitis C Virus Life Cycle in Vero Cells Derived from Monkey Kidney. **mBio**, v. 7, n. 3, 6 jul. 2016.

NASCIMENTO, J. C. R. et al. Impact of apolipoprotein E genetic polymorphisms on liver disease: An essential review. **Annals of Hepatology**, v. 19, n. 1, p. 24–30, 2020.

NASCIMENTO, J. C. R. **POLIMORFISMO DA APOLIPOPROTEÍNA E NA CIRROSE HEPÁTICA INDUZIDA PELO VÍRUS DA HEPATITE C COM OU SEM CARCINOMA HEPATOCELULAR NO PERIOPERATÓRIO DE TRANSPLANTE ORTOTÓPICO DE FÍGADO**. [s.l: s.n.].

NASCIMENTO, J. C. R. et al. Apolipoprotein E polymorphism influences orthotopic liver transplantation outcomes in patients with hepatitis C virus-induced liver cirrhosis. **World Journal of Gastroenterology**, v. 27, n. 11, p. 1064–1075, 21 mar. 2021.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, U. S. N. L. OF M. APOE apolipoprotein E [Homo sapiens (human)]. 2021.

- NIELSEN, S. U. et al. Association between Hepatitis C Virus and Very-Low-Density Lipoprotein (VLDL)/LDL Analyzed in Iodixanol Density Gradients. **Journal of Virology**, v. 80, n. 5, p. 2418–2428, 1 mar. 2006.
- OJOPI, E. P. B.; BERTONCINI, A. B.; NETO, E. D. Apolipoproteína E e a doença de Alzheimer Artigo Original. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 31, n. 1, p. 26–33, 2004.
- OLAISEN, B.; TEISBERG, P.; GEDDE-DAHL, T. The locus for apolipoprotein E (apoE) is linked to the complement component C3 (C3) locus on chromosome 19 in man. **Human Genetics**, v. 62, n. 3, p. 233–236, dez. 1982.
- ORDOVAS, J. M. et al. Apolipoprotein E isoform phenotyping methodology and population frequency with identification of apoE1 and apoE5 isoforms. **Journal of lipid research**, v. 28, n. 4, p. 371–80, abr. 1987.
- ORIÁ, R. B. et al. Fisiologia Hepática. **Sistema Digestório: Integração Básico-Clínica**, p. 575–602, 2016.
- ORTH, M.; BELLOSTA, S. Cholesterol: Its Regulation and Role in Central Nervous System Disorders. **Cholesterol**, v. 2012, p. 1–19, 17 out. 2012.
- OWEN, D. M. et al. Apolipoprotein E on hepatitis C virion facilitates infection through interaction with low-density lipoprotein receptor. **Virology**, v. 394, n. 1, p. 99–108, nov. 2009.
- PHILLIPS, M. C. Apolipoprotein E isoforms and lipoprotein metabolism. **IUBMB Life**, v. 66, n. 9, p. 616–623, set. 2014.
- POPESCU, C.-I. et al. Hepatitis C Virus Life Cycle and Lipid Metabolism. **Biology**, v. 3, n. 4, p. 892–921, 15 dez. 2014.
- PRONTEIN DATA BANK. **Structure of full length apoE3**. Disponível em: <<https://www.rcsb.org/structure/2L7B>>.
- PUMEECHOCKCHAI, W. et al. Hepatitis C virus particles of different density in the blood of chronically infected immunocompetent and immunodeficient patients: Implications for virus clearance by antibody. **Journal of Medical Virology**, v. 68, n. 3, p. 335–342, nov. 2002.
- RALL, S. C.; WEISGRABER, K. H.; MAHLEY, R. W. Human apolipoprotein E. The complete amino acid sequence. **The Journal of biological chemistry**, v. 257, n. 8, p. 4171–8, 25 abr. 1982.
- RIBEIRO, M. DE F. G. DE S. **Fatores prognósticos na evolução da hepatite C**. [s.l.: s.n.].
- ROSEN, H. R.; GRETCH, D. R. Hepatitis C virus: current understanding and prospects for future therapies. **Molecular Medicine Today**, v. 5, n. 9, p. 393–399, set. 1999.
- SCARSELLI, E. et al. The human scavenger receptor class B type I is a novel candidate receptor for the hepatitis C virus. **The EMBO Journal**, v. 21, n. 19, p. 5017–5025, 1 out. 2002.
- SHIH, S.-J. et al. Duplicated Downstream Enhancers Control Expression of the Human Apolipoprotein E Gene in Macrophages and Adipose Tissue. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 41, p. 31567–31572, out. 2000.

- SHIMIZU, Y. et al. Lipoprotein lipase and hepatic triglyceride lipase reduce the infectivity of hepatitis C virus (HCV) through their catalytic activities on HCV-associated lipoproteins. **Virology**, v. 407, n. 1, p. 152–159, nov. 2010.
- SHORE, B. et al. An apolipoprotein preferentially enriched in cholesteryl ester-rich very low density lipoproteins. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 58, n. 1, p. 1–7, maio 1974.
- SHORE, V. G.; SHORE, B. Heterogeneity of human plasma very low density lipoproteins. Separation of species differing in protein components. **Biochemistry**, v. 12, n. 3, p. 502–507, 1 jan. 1973.
- 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. 318–327, 20 jan. 2014.
- SMITH, J. D. et al. Expression of the human apolipoprotein E gene is regulated by multiple positive and negative elements. **The Journal of biological chemistry**, v. 263, n. 17, p. 8300–8, 15 jun. 1988.
- TAKAHASHI, C. et al. Ocorrência de hepatites não-anão-B em unidade de hemodiálise. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 21, n. 3, p. 105–111, set. 1988.
- TELLINGHUISEN, T. L. et al. Studying Hepatitis C Virus: Making the Best of a Bad Virus. **Journal of Virology**, v. 81, n. 17, p. 8853–8867, 1 set. 2007.
- TERRAULT, N. A. Sexual activity as a risk factor for hepatitis C. **Hepatology**, v. 36, n. 5B, p. s99–s105, nov. 2002.
- THE EUROPEAN BIOINFORMATICS INSTITUTE. **Família: Apolipoproteína (PF01442)**. Disponível em: <<https://pfam.xfam.org/family/Apolipoprotein>>. Acesso em: 1 mar. 2021.
- TRUSCA, V. G. et al. Macrophage-specific Up-regulation of Apolipoprotein E Gene Expression by STAT1 Is Achieved via Long Range Genomic Interactions. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 16, p. 13891–13904, abr. 2011.
- TUDORACHE, I. F.; TRUSCA, V. G.; GAFENCU, A. V. Apolipoprotein E - A Multifunctional Protein with Implications in Various Pathologies as a Result of Its Structural Features. **Computational and structural biotechnology journal**, v. 15, p. 359–365, 2017.
- UTERMANN, G.; JAESCHKE, M.; MENZEL, J. Familial hyperlipoproteinemia type III: Deficiency of a specific apolipoprotein (APO E-III) in the very-low-density lipoproteins. **FEBS Letters**, v. 56, n. 2, p. 352–355, 1 ago. 1975.
- VALENTE, C.; FERNANDES, C.; TRINDADE, L. Hepatite C aguda no profissional de saúde - revisão a propósito de um caso clínico. **Jornal Português de Gastrenterologia**, v. 17, n. 6, p. 255–261, 2010.
- WEISGRABER, K. H. et al. A novel electrophoretic variant of human apolipoprotein E. Identification and characterization of apolipoprotein E1. **Journal of Clinical Investigation**, v. 73, n. 4, p. 1024–1033, 1 abr. 1984.
- WEISGRABER, K. H. Apolipoprotein E: Structure-function relationships. **Advances in Protein Chemistry**, v. 45, p. 249–302, 1994.



WILSON, C. et al. Three-dimensional structure of the LDL receptor-binding domain of human apolipoprotein E. **Science**, v. 252, n. 5014, p. 1817–1822, 28 jun. 1991.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Hepatite C**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c>>. Acesso em: 16 fev. 2020.

WOZNIAK, M. A. et al. Apolipoprotein E-ε4 protects against severe liver disease caused by hepatitis C virus. **Hepatology**, v. 36, n. 2, p. 456–463, ago. 2002.

WRENSCH, F. et al. Hepatitis C Virus (HCV)–Apolipoprotein Interactions and Immune Evasion and Their Impact on HCV Vaccine Design. **Frontiers in Immunology**, v. 9, 21 jun. 2018.

YAMAMURA, T.; DONG, L. M.; YAMAMOTO, A. Characterization of apolipoprotein E7 (Glu(244)-->Lys, Glu(245)-->Lys), a mutant apolipoprotein E associated with hyperlipidemia and atherosclerosis. **Journal of lipid research**, v. 40, n. 2, p. 253–9, fev. 1999.

ZAHID, M. N. et al. The postbinding activity of scavenger receptor class B type I mediates initiation of hepatitis C virus infection and viral dissemination. **Hepatology**, v. 57, n. 2, p. 492–504, fev. 2013.

ZANNIS, V. I. et al. Proposed nomenclature of apoE isoproteins, apoE genotypes, and phenotypes. **Journal of lipid research**, v. 23, n. 6, p. 911–4, ago. 1982.

ZANNIS, V. I.; BRESLOW, J. L. Human very low density lipoprotein apolipoprotein E isoprotein polymorphism is explained by genetic variation and posttranslational modification. **Biochemistry**, v. 20, n. 4, p. 1033–1041, 17 fev. 1981.

ZEISEL, M. B.; FELMLEE, D. J.; BAUMERT, T. F. Hepatitis C Virus Entry. In: [s.l.: s.n.]. p. 87–112.