UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO

LUCIANA CASTELAR TSUDA

**Polimorfismos do fator de necrose tumoral alfa, da interleucina-18 e
do interferon gama na coinfeção HIV/HCV**

RIBEIRÃO PRETO

2015

LUCIANA CASTELAR TSUDA

**Polimorfismos do fator de necrose tumoral alfa, da interleucina-18 e
do interferon gama na coinfeção HIV/HCV**

Tese apresentada à Escola de Enfermagem de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências, Programa
de Pós-Graduação Enfermagem Fundamental.

Linha de pesquisa: Ciência e tecnologia em
enfermagem

Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula Moraes
Fernandes

RIBEIRÃO PRETO

2015

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Tsuda, Luciana Castelar

Polimorfismos do fator de necrose tumoral alfa, da interleucina-18 e do interferon gama na coinfeção HIV/HCV. Ribeirão Preto, 2015.

160 p. : il. ; 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Enfermagem Fundamental.

Orientadora: Fernandes, Ana Paula Morais.

1. HIV. 2. Hepatite C. 3. Polimorfismo genético. 4. Fator de Necrose Tumoral alfa. 5. Interleucina-18. 6. Interferon gama. 7. Enfermagem.

TSUDA, Luciana Castelar

Polimorfismos do fator de necrose tumoral alfa, da interleucina-18 e do interferon gama na coinfeção HIV/HCV.

Tese apresentada à Escola de Enfermagem de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências, Programa
de Pós-Graduação Enfermagem Fundamental.

Aprovada em: / /

Banca Examinadora

Prof.Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedico este trabalho

*Ao meu pai, Antônio Carlos (in memoriam),
Meu grande incentivador e exemplo de integridade*

*Ao meu marido Ricardo,
Por compartilhar comigo seus ideais de vida*

*À minha mãe Norma e meu irmão Gerson,
Por serem parte de mim*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida.

À minha mãe Norma e ao meu marido Ricardo, pelo apoio, compreensão, dedicação e amor.

À Profa. Dra. Ana Paula Morais Fernandes, pela orientação de mais esse trabalho, pela parceria e por acreditar em mim.

Ao Prof. Dr. Celso Teixeira Mendes Junior pelos ensinamentos e auxílios no desenvolvimento metodológico deste estudo.

Ao Dr. Fernando Crivelenti Vilar, pelos ensinamentos, auxílio na concepção e desenvolvimento do estudo e no recrutamento dos pacientes.

À Profa. Dra. Ana de Lourdes Candolo Martinelli, pelo auxílio na concepção e apoio durante a realização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Eduardo Antônio Donadi, pelo apoio e ensinamentos durante minha formação acadêmica.

À Profa. Dra. Leandra Naira Zambelli Ramalho, pela contribuição na revisão e classificação das biópsias hepáticas.

À Dra. Fernanda Fernandes Souza, pelo auxílio na concepção do estudo e no recrutamento dos pacientes.

À Profa. Dra. Alcyone Artioli Machado, pelo apoio e por tornar possível a realização das atividades na UETDI.

À Neifi, Sandra e Rubens, do Laboratório de Imunologia Molecular, pelos ensinamentos e colaboração com os procedimentos laboratoriais.

Às Enfermeiras da EERP, amigas e companheiras de trabalho: Rosicler, Juliana, Lívia, Luiza, Maria Verônica, Margareth, Daniela, Karina e Fernanda pelo compartilhamento diário de experiências e momentos importantes de nossas vidas.

Ao Jonas Bodini Alonso, por parte das análises estatísticas.

À equipe do ambulatório de Hepatites e Imunodeficiência do HCFMRP-USP.

Aos pacientes, que apesar de tantas dificuldades, possuem a esperança de um futuro melhor.

RESUMO

TSUDA, L. C. **Polimorfismos do fator de necrose tumoral alfa, da interleucina-18 e do interferon gama na coinfeção HIV/HCV**. 2015. 160 f. Tese (Doutorado) - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

As complicações hepáticas secundárias à infecção crônica pelo vírus da hepatite C (HCV) são uma importante causa de morte em portadores da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). Pacientes com coinfeção HIV/HCV apresentam progressão acelerada da fibrose hepática, na qual há participação da resposta inflamatória do sistema imunológico, e requerem maior atenção no tratamento da hepatite C e de suas reações adversas. Assim, os objetivos principais do estudo foram tipificar e comparar os polimorfismos -607 e -137 da interleucina-18 (IL-18), +874 do interferon gama (IFN- γ) e -308 e -238 do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) em quatro grupos (coinfeção HIV/HCV, monoinfecção pelo HIV, monoinfecção pelo HCV e controles saudáveis); investigar a associação dos alelos e genótipos desses polimorfismos com a resposta ao tratamento da hepatite C (respondedor e não respondedor), graus de atividade necroinflamatória (METAVIR A0A1 vs. A2A3) e de fibrose hepática (METAVIR F0-F2 vs. F3F4) em portadores do HCV e identificar os sinais e sintomas relacionados às reações adversas do tratamento da hepatite C. Os dados foram coletados nos prontuários médicos e no sistema informatizado do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e os polimorfismos tipificados pela técnica de reação em cadeia da polimerase com iniciadores de sequência específica. Participaram do estudo 400 indivíduos, distribuídos em quatro grupos de 100, predominantemente constituídos por homens com idade média entre 33 e 50 anos. Na avaliação geral, os genótipos -238 G/G (TNF- α) e +874 A/A (IFN- γ) foram mais frequentes no grupo coinfeção HIV/HCV em relação ao monoinfecção pelo HCV. O genótipo -308 G/A e o alelo -308 A (TNF- α) foram associados com a susceptibilidade à coinfeção HIV/HCV e o genótipo -308 G/G e o alelo -308 G (TNF- α), com proteção. No grupo coinfeção HIV/HCV, a frequência do genótipo -137 G/C (IL-18) foi maior nos sujeitos com atividade necroinflamatória A0A1 que nos

com A2A3. Nos pacientes com fibrose F3F4, o genótipo -238 G/G (TNF- α) foi mais frequente no grupo coinfeção HIV/HCV que no monoinfeção pelo HCV e naqueles com F0-F2, o genótipo +874 A/A (IFN- γ) também foi mais frequente no grupo coinfeção HIV/HCV. A frequência do genótipo +874 T/T (IFN- γ), dentre os pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV, foi maior naqueles com fibrose F3F4 que nos com F0-F2. Não foram encontradas associações estatisticamente significantes entre as frequências alélicas e genotípicas e os tipos de resposta ao tratamento da hepatite C nos pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV; nos do monoinfeção pelo HCV, houve diferenças nas frequências alélicas e genotípicas (posição -238 do TNF- α) entre pacientes respondedores e não respondedores. Os principais sinais e sintomas relacionados às reações adversas do tratamento da hepatite C foram mialgia, febre, fraqueza, cefaleia e hiporexia. Anemia, hiporexia e vômito foram mais frequentes no grupo coinfeção HIV/HCV. Conclui-se que há relação dos alelos e genótipos de citocinas com a gravidade da doença hepática e resposta ao tratamento da hepatite C. Adicionalmente, algumas reações adversas ao tratamento foram mais pronunciadas em coinfectados HIV/HCV.

Palavras-chave: HIV. Hepatite C. Polimorfismo genético. Fator de Necrose Tumoral alfa. Interleucina-18. Interferon gama. Enfermagem.

ABSTRACT

TSUDA, L. C. **Polymorphisms of the tumor necrosis factor-alpha, of the interleukin-18 and of the interferon-gamma in HIV/HCV coinfection.** 2015. 160 p. Dissertation (Doctoral) - University of São Paulo at Ribeirão Preto College of Nursing, Ribeirão Preto, 2015.

Hepatic complications secondary to chronic infection by hepatitis C virus (HCV) are a major cause of death in people infected by the human immunodeficiency virus (HIV). Patients with HIV/HCV coinfection present rapid progression of liver fibrosis, with involvement of the immune system's inflammatory response, and require more attention in hepatitis C treatment and its adverse reactions. The main goals of this study were to typify and compare the polymorphisms -607 and -137 of the interleukin-18 (IL-18), +874 of the interferon gamma (IFN- γ) and -308 and -238 of the tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in four groups (HIV/HCV coinfection, HIV monoinfection, HCV monoinfection and healthy controls), to investigate the association of the alleles and genotypes of these polymorphisms with response to hepatitis C treatment (responder and non-responder), degrees of necroinflammatory activity (METAVIR A0A1 vs. A2A3) and of liver fibrosis (METAVIR F0-F2 vs. F3F4) in HCV patients and to identify the signs and symptoms related to adverse reactions of hepatitis C treatment. Data were collected on medical records and on the computerized system of the *Hospital das Clínicas* of the University of São Paulo Ribeirão Preto Medical School and the polymorphisms were typified using the polymerase chain reaction technique with sequence specific primers. The study included 400 individuals, distributed in four groups of 100, predominantly consisting of men with an average age between 33 and 50 years. In the overall evaluation, genotypes -238 G/G (TNF- α) and +874 A/A (IFN- γ) were more frequent in the HIV/HCV coinfection group compared to HCV monoinfection. The genotype -308 G/A and allele -308 A (TNF- α) were associated with susceptibility to HIV/HCV coinfection and the genotype -308 G/G and allele -308 G (TNF- α), with protection. In the HIV/HCV coinfection group, the frequency of genotype -137 G/C (IL-18) was greater in subjects with necroinflammatory activity A0A1 than in the ones with A2A3. In

patients with fibrosis F3F4, genotype -238 G/G (TNF- α) was more frequent in the HIV/HCV coinfection than in the HCV monoinfection group and in those with fibrosis F0-F2, genotype +874 A/A (IFN- γ) was also more frequent in the HIV/HCV coinfection group. The frequency of genotype +874 T/T (IFN- γ), among patients of the HIV/HCV coinfection group, was higher in those with fibrosis F3F4 compared to the ones with F0-F2. No statistically significant associations were found between the allele and genotype frequencies and the types of answer to hepatitis C treatment in patients of the HIV/HCV coinfection group. On the ones of the HCV monoinfection group, there were differences on the allele and genotype frequencies (position -238 of TNF- α) among responder and non-responder patients. The main signs and symptoms related to adverse reactions to hepatitis C treatment were myalgia, fever, weakness, headache and loss of appetite. Anemia, loss of appetite and vomiting were more frequent in the HIV/HCV coinfection group. It is concluded that there is relationship of the alleles and genotypes of cytokines with the severity of liver disease and response to hepatitis C treatment. Additionally, some adverse reactions to treatment were more frequent in HIV/HCV coinfecting patients.

Keywords: HIV. Hepatitis C. Polymorphism, Genetic. Tumor Necrosis Factor-alpha. Interleukin-18. Interferon-gamma. Nursing.

RESUMEN

TSUDA, L. C. **Polimorfismos del factor de necrosis tumoral alfa, interleucina-18 y del interferón gamma en la coinfección VIH/VHC.** 2015. 160 h. Tesis (Doctorado) - Escuela de Enfermería de Ribeirao Preto de la Universidad de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

Las complicaciones hepáticas secundarias a la infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC) es una de las principales causas de muerte en pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana(VIH). Los pacientes con coinfección VIH/VHC presentan rápida progresión de la fibrosis hepática, con participación de la respuesta inflamatoria del sistema inmune, y requieren mayor atención en el tratamiento de la hepatitis C y de sus reacciones adversas. Los principales objetivos de este estudio fueron tipificar y comparar los polimorfismos -607 y -137 de la interleucina-18(IL-18), +874 del interferón gamma(IFN- γ) y -308 y -238 del factor de necrosis tumoral alfa(TNF- α) en cuatro grupos (coinfección VIH/VHC, monoinfección por el VIH, monoinfección por el VHC y controles sanos); investigar la asociación de los alelos y genotipos de estos polimorfismos con la respuesta al tratamiento de la hepatitis C (respondedor y no-respondedor), grados de actividad necroinflamatoria (METAVIR A0A1 vs. A2A3) y de fibrosis hepática (METAVIR F0-F2 vs. F3F4) en pacientes portadores del VHC e identificar los signos y síntomas relacionados con las reacciones adversas del tratamiento de la hepatitis C. Los datos fueron recolectados en los registros médicos y en el sistema computarizado de un Hospital y los polimorfismos tipificados utilizando la técnica de reacción en cadena de la polimerasa. Participaron del estudio 400 individuos, distribuidos en cuatro grupos de 100, predominantemente hombres con edad promedio entre 33 y 50 años. En la evaluación general, los genotipos -238 G/G(TNF- α) y +874 A/A(IFN- γ) fueron más frecuentes en el grupo coinfección VIH/VHC en comparación con el monoinfección por el VHC. El genotipo -308 G/A y el alelo -308 A(TNF- α) fueron asociados con la susceptibilidad a la coinfección VIH/VHC y el genotipo -308 G/G y alelo -308 G (TNF- α), con la protección. En el grupo coinfección VIH/VHC, la frecuencia del genotipo -137G/C(IL-18) fue mayor en los sujetos con

actividad necroinflamatoria A0A1 que en los con A2A3. En los pacientes con fibrosis F3F4, el genotipo -238 G/G(TNF- α) fue más frecuente en el grupo coinfección VIH/VHC que en el grupo monoinfección por el VHC y en aquellos con F0-F2, el genotipo +874 A/A(IFN- γ) también fue más frecuente en el grupo coinfección VIH/VHC. La frecuencia del genotipo +874 T/T(IFN- γ), entre los pacientes del grupo coinfección VIH/VHC, fue mayor en aquellos con fibrosis F3F4 en comparación con fibrosis F0-F2. No se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre las frecuencias alélicas y genotípicas y los tipos de respuesta al tratamiento de la hepatitis C en los pacientes del grupo coinfección VIH/VHC. En los del grupo monoinfección por el HCV, hubo diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas(posición -238 del TNF- α) entre pacientes respondedores y no-respondedores. De las reacciones adversas al tratamiento, anemia, pérdida de apetito y vómito fueron más frecuentes en el grupo coinfección VIH/VHC. Se concluye que hay relación de los alelos y genotipos de citoquinas con la severidad de la enfermedad hepática y la respuesta al tratamiento de la hepatitis C. Además, algunas reacciones adversas al tratamiento fueron más pronunciadas en pacientes con coinfección por VIH/VHC.

Palabras clave: VIH. Hepatitis C. Polimorfismo Genético. Factor de Necrosis Tumoral alfa. Interleucina-18. Interferón gamma. Enfermería.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Estrutura do HIV-1.....	26
Figura 2 -	A estrutura do HCV.....	34
Figura 3 -	Evolução da infecção pelo HCV.....	36
Figura 4 -	Gel de poliacrilamida a 10% mostrando a mobilidade eletroforética do polimorfismo do SNP +874 do IFN- γ	69

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Modo de descoberta da infecção pelo HIV entre os pacientes dos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfecção pelo HIV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	77
Gráfico 2 -	Modo de descoberta da infecção pelo HCV entre os pacientes dos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfecção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	81
Gráfico 3 -	Distribuição dos genótipos do HCV, de acordo com os tipos de resposta ao tratamento da hepatite C, no grupo coinfeção HIV/HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	84
Gráfico 4 -	Distribuição dos genótipos do HCV, de acordo com os tipos de resposta ao tratamento da hepatite C, no grupo monoinfecção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	84
Gráfico 5 -	Medidas terapêuticas instituídas para minimizar as alterações hematológicas durante o tratamento da hepatite C entre os pacientes dos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfecção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Concentrações de reagentes utilizados para a amplificação dos SNPs -607 e -137 da IL-18.....	61
Tabela 2 -	Iniciadores para detecção dos alelos do SNP -607 C/A da IL-18.....	62
Tabela 3 -	Iniciadores para detecção dos alelos do SNP -137 G/C da IL-18....	62
Tabela 4 -	Condições de amplificação do SNP -607 da IL-18.....	63
Tabela 5 -	Condições de amplificação do SNP -137 da IL-18.....	63
Tabela 6 -	Concentrações de reagentes utilizados para a amplificação do SNP +874 do INF- γ	64
Tabela 7 -	Iniciadores para detecção dos alelos do SNP +874 do IFN- γ	64
Tabela 8 -	Condições de amplificação do SNP +874 do IFN- γ	65
Tabela 9 -	Concentrações de reagentes utilizados para a amplificação dos SNPs -308 e -238 do TNF- α	66
Tabela 10 -	Iniciadores para detecção dos alelos do SNP -308 do TNF- α	66
Tabela 11 -	Iniciadores para detecção dos alelos do SNP -238 do TNF- α	67
Tabela 12 -	Condições de amplificação dos SNPs -308 e -238 do TNF- α	67
Tabela 13 -	Reagentes e volumes utilizados para a preparação do gel de poliacrilamida não desnaturante a 10%.....	68
Tabela 14 -	Distribuição das características sociodemográficas dos participantes, segundo idade, sexo e cor da pele, de acordo com os grupos estudados. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	73
Tabela 15 -	Distribuição dos resultados de exames laboratoriais dos pacientes de acordo com os grupos coinfeção HIV/HCV, monoinfeção pelo HIV e monoinfeção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013..	74
Tabela 16 -	Distribuição dos dados somatométricos dos pacientes, segundo peso, altura e IMC, de acordo com os grupos coinfeção HIV/HCV, monoinfeção pelo HIV e monoinfeção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	75
Tabela 17 -	Distribuição do tempo de diagnóstico da infecção pelo HIV e do tempo de tratamento com ARV, de acordo com os grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HIV. Ribeirão Preto,	

	2012 a 2013.....	75
Tabela 18 -	Descrição dos esquemas terapêuticos com ARV mais prevalentes entre os pacientes dos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HIV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	76
Tabela 19 -	Distribuição dos resultados de exames laboratoriais, segundo carga viral do HIV, número de linfócitos T CD4 ⁺ e T CD8 ⁺ , de acordo com os grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HIV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	78
Tabela 20 -	Distribuição das comorbidades e doenças oportunistas mais prevalentes entre os pacientes, de acordo com os grupos coinfeção HIV/HCV, monoinfeção pelo HIV e monoinfeção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	79
Tabela 21 -	Distribuição dos genótipos do HCV entre os pacientes, de acordo com os grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	79
Tabela 22 -	Distribuição do tempo de diagnóstico da infecção pelo HCV e de seguimento no ambulatório de hepatites, de acordo com os grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	80
Tabela 23 -	Distribuição dos dados relacionados à biópsia e ao diagnóstico de cirrose hepática, de acordo com os grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	82
Tabela 24 -	Distribuição dos dados relacionados ao tratamento da hepatite C, de acordo com os grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV.....	83
Tabela 25 -	Distribuição dos sinais e sintomas das reações adversas relacionados ao tratamento da hepatite C, de acordo com os grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	85
Tabela 26 -	Descrição da ingestão alcoólica entre os pacientes dos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	88
Tabela 27 -	Distribuição das frequências alélicas e genotípicas dos SNPs -308	

	e -238 do TNF- α , +874 do IFN- γ e -607 e -137 da IL-18, de acordo com os grupos estudados. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	89
Tabela 28 -	Distribuição das associações significativas dos alelos e genótipos dos SNPs -308 e -238 do TNF- α , +874 do IFN- γ e -607 da IL-18 entre os grupos estudados. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	90
Tabela 29 -	Distribuição das frequências haplotípicas da IL-18, de acordo com os grupos estudados. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	91
Tabela 30 -	Distribuição das frequências haplotípicas do TNF- α , de acordo com os grupos estudados. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	92
Tabela 31 -	Distribuição das associações significativas dos haplótipos dos SNPs -308 e -238 do TNF- α e -607 e -137 da IL-18 entre os grupos estudados. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	93
Tabela 32 -	Distribuição das frequências alélicas e genotípicas dos SNPs -308 e -238 do TNF- α , +874 do IFN- γ e -607 e -137 da IL-18, de acordo com o grau de atividade necroinflamatória pela classificação METAVIR nos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	94
Tabela 33 -	Distribuição das frequências alélicas e genotípicas dos SNPs -308 e -238 do TNF- α , +874 do IFN- γ e -607 e -137 da IL-18, de acordo com o grau de fibrose hepática pela classificação METAVIR nos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	96
Tabela 34 -	Distribuição das associações significativas entre os genótipos dos SNPs -238 do TNF- α e +874 do IFN- γ e as diferentes classificações de fibrose hepática nos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	97
Tabela 35 -	Distribuição das associações significativas entre os genótipos do IFN- γ +874 e as diferentes classificações de fibrose hepática, de acordo com os grupos de pacientes. Ribeirão Preto, 2012 a 2013..	97
Tabela 36 -	Distribuição das frequências alélicas e genotípicas dos SNPs -308 e -238 do TNF- α , +874 do IFN- γ e -607 e -137 da IL-18, de acordo	

	com o tipo de resposta ao tratamento da hepatite C no grupo coinfecção HIV/HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	98
Tabela 37 -	Distribuição das frequências alélicas e genotípicas dos SNPs -308 e -238 do TNF- α , +874 do IFN- γ e -607 e -137 da IL-18, de acordo com o tipo de resposta ao tratamento da hepatite C no grupo monoinfecção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	99
Tabela 38 -	Distribuição das associações significativas entre os alelos e genótipos do SNP -238 do TNF- α e a classificação do tipo de resposta ao tratamento da hepatite C no grupo monoinfecção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.....	100

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Adenina
ALT	Alanina aminotransferase
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ARV	Antirretrovirais
AST	Aspartato aminotransferase
ATV	Atazanavir
AZT	Zidovudina
BANPI	Banco de Amostras do Núcleo de Pesquisa em Imunogenética
BOC	Boceprevir
C	Citosina
CDs	Células dendríticas
CEHs	Células estreladas hepáticas
CEP	Comitê de ética em pesquisa
CHC	Carcinoma hepatocelular
CTA	Centros de Testagem e Aconselhamento
CVE	Centro de Vigilância Epidemiológica
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DST	Doenças sexualmente transmissíveis
d4T	Estavudina
EFZ	Efavirenz
EHW	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
EERP	Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto
FDA	<i>United States Food and Drug Administration</i>
G	Guanina
GGT	Gama-glutamyltransferase
GVE	Grupo de Vigilância Epidemiológica
HBV	<i>Hepatitis B virus</i>
HCFMRP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
HCV	<i>Hepatitis C virus</i>
HIV	<i>Human immunodeficiency virus</i>

Ho	Heterozigose observada
Hs	Heterozigose esperada
IFN	Interferon
IL	Interleucina
IMC	Índice de massa corporal
INR	<i>International normalized ratio</i>
IP	Inibidores de protease
ITRN	Inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos
ITRNN	Inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos
ITRnt	Inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleotídeos
LPS	Lipopolissacarídeo
LPV/r	Lopinavir/Ritonavir
MCP-1	<i>Monocyte chemoattractant protein-1</i>
MHC	<i>Major histocompatibility complex</i>
NAT	Teste de ácido nucleico
NK	<i>Natural killer</i>
NVP	Nevirapina
OMS	Organização Mundial da Saúde
Pb	Pares de bases
PCR-SSP	<i>Polymerase chain reaction with sequence-specific primers</i>
PEG-IFN	Interferon peguilado
p_{EHW}	Probabilidade de aderência ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg
PEP	Profilaxia pós-exposição
PrEP	Profilaxia pré-exposição
RBV	Ribavirina
REDOME	Registro Nacional de Doadores de Medula Óssea
RNA	Ácido ribonucleico
RNA-HCV	Ácido ribonucleico do vírus da hepatite C
RNA _m	Ácido ribonucleico mensageiro
RTV	Ritonavir
RVS	Resposta virológica sustentada
RVNS	Resposta virológica não sustentada
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação

SNPs	<i>Single nucleotide polymorphisms</i>
T	Timina
TARV	Terapia antirretroviral
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TDF	Tenofovir
TEMED	<i>Tetramethylethylenediamine</i>
TGF- β	<i>Transforming growth factor-beta</i>
TNF- α	<i>Tumour necrosis fator-alpha</i>
TRAIL	<i>Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand</i>
TR	Teste rápido
TR-FO	Teste rápido utilizando fluido oral
TSH	Hormônio tireoestimulante
TVR	Telaprevir
UETDI	Unidade Especial de Tratamento em Doenças Infecciosas
UNAIDS	Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS
USP	Universidade de São Paulo
UTRs	<i>Untranslated regions</i>
3TC	Lamivudina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	24
1.1 O vírus da imunodeficiência humana	24
1.1.1 Transmissão do HIV	25
1.1.2 Estrutura e organização genômica do HIV	25
1.1.3 História natural da infecção pelo HIV	26
1.1.4 Diagnóstico	28
1.1.5 Tratamento	29
1.1.6 Profilaxia	30
1.2 O vírus da hepatite C	31
1.2.1 Transmissão do HCV	32
1.2.2 Estrutura e organização genômica do HCV	33
1.2.3 História natural da infecção pelo HCV	34
1.2.3.1 Imunopatogênese	36
1.2.3.2 Citocinas	37
1.2.3.3 Fibrose hepática	40
1.2.4 Diagnóstico	41
1.2.5 Tratamento	41
1.2.5.1 Exames complementares para monitoramento	43
1.2.6 Profilaxia	44
1.3 A coinfeção HIV/HVC	44
1.3.1 Polimorfismos das citocinas IL-18, IFN- γ e TNF- α na coinfeção HIV/HCV	48
2 HIPÓTESE	51
3 OBJETIVOS	53
4 MATERIAL E MÉTODOS	55
4.1 Delineamento do estudo e aspectos éticos	55
4.2 Local do estudo	55
4.3 Cálculo amostral	56
4.4 Seleção dos participantes	56
4.5 Coleta dos dados sociodemográficos, clínicos, laboratoriais e das biópsias	

hepáticas.....	57
4.6 Procedimentos para determinação dos polimorfismos genéticos.....	59
4.6.1 Coleta do sangue venoso periférico, técnica de extração do DNA e armazenamento das amostras.....	59
4.6.2 Tipificação dos polimorfismos dos SNPs -607 C/A e -137 G/C da IL-18.....	60
4.6.3 Tipificação do polimorfismo do SNP +874 T/A do IFN- γ	63
4.6.4 Tipificação dos polimorfismos dos SNPs -308 G/A e -238 G/A do TNF- α	65
4.6.5 Análise do produto amplificado.....	67
4.6.6 Coloração com nitrato de prata.....	68
4.6.7 Registro dos resultados.....	69
4.7 Análise estatística.....	70
5 RESULTADOS	73
5.1 Caracterização demográfica e clínica dos sujeitos.....	73
5.2 Polimorfismos das citocinas.....	88
6 DISCUSSÃO	102
6.1 Implicações para a prática de Enfermagem.....	120
7 CONCLUSÕES	126
REFERÊNCIAS	129
APÊNDICES	153
ANEXOS	157

Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 O vírus da imunodeficiência humana

O vírus da imunodeficiência humana 1 (*Human immunodeficiency virus* – HIV) pertence à família dos retrovírus e ao gênero *Lentivirus*. Foi identificado na década de 1980, após o aparecimento dos primeiros casos da síndrome da imunodeficiência humana - aids - em homossexuais masculinos nos Estados Unidos da América (EUA) (CDC, 1981).

Mesmo após a grande epidemia de infecções ocorrida nos anos 80 e 90, a infecção pelo HIV ainda é considerada um dos grandes desafios mundiais de saúde, devido, dentre outros fatores, à sua ampla distribuição geográfica. No último levantamento mundial realizado em 2013, estimou-se que 35 milhões de pessoas vivem com o vírus, e dessas, 19 milhões desconhecem a sua situação de soropositividade para o HIV. No mesmo ano, foram identificadas 2,1 milhões de novas infecções e 1,5 milhões de mortes relacionadas à aids (UNAIDS, 2014).

No Brasil, desde a identificação dos primeiros casos de aids em 1980 até 2012 foram registrados 656.701 casos da doença – 56% notificados na região sudeste, de acordo com o último levantamento realizado (BRASIL, 2014). Em ambos os sexos, a faixa etária de maior incidência é de 25 a 49 anos, e, apesar da maioria dos casos serem identificados em heterossexuais, a epidemia no país é concentrada em grupos populacionais com maior vulnerabilidade, como homossexuais, profissionais do sexo e usuários de drogas (BRASIL, 2014).

No estado de São Paulo, foram notificados 228.698 casos de aids de 1980 até junho de 2013, e 103.267 óbitos no mesmo período. Estima-se que hoje cerca de 132.000 pessoas entre 15 e 49 anos vivam com o HIV no estado, com a região de Ribeirão Preto ocupando a quarta posição entre as com maiores taxas de incidência. Nesse sentido, a infecção pelo HIV/aids é considerada um dos mais graves problemas de saúde pública em São Paulo, sendo alocada entre as cinco primeiras causas de mortalidade entre pessoas de 25 a 44 anos (SÃO PAULO, 2014).

Um segundo tipo de HIV, denominado HIV-2, é predominantemente encontrado em países do oeste africano e apresenta fase assintomática mais longa e menor patogenicidade que HIV-1 (CAMPBELL-YESUFU; GANDHI, 2011).

1.1.1 Transmissão do HIV

O HIV está presente em vários fluidos corporais, sendo o sangue, sêmen, secreção vaginal e leite materno os principais relacionados à sua transmissão. Os modos mais comuns de infecção são por via sexual - e os riscos se tornam aumentados na presença de múltiplos parceiros ou de outras doenças sexualmente transmissíveis (DST) - transmissão vertical, compartilhamento de seringa, agulha ou outro equipamento perfurante ou cortante contaminado (CDC, 2014a; WHO, 2014a).

Menos comumente, a transmissão também ocorre em casos de acidentes ocupacionais com exposição percutânea ou contato dos fluidos em mucosas. Transfusões de sangue, hemoderivados ou transplante de órgãos e tecidos contaminados já foram descritos como fonte potencial de contaminação, mas atualmente esse risco é muito remoto devido aos testes realizados previamente aos procedimentos com altos padrões de segurança (CDC, 2014a; WHO, 2014a).

1.1.2 Estrutura e organização genômica do HIV

O HIV possui aproximadamente 100 nm de diâmetro. É formado externamente por um envelope lipídico derivado da membrana plasmática da célula do hospedeiro na qual são inseridas glicoproteínas virais, e internamente por uma matriz proteica e um capsídeo, onde encontra-se seu material genético composto de duas cópias de fitas simples de ácido ribonucleico (RNA) (HASELTINE, 1991; NIH, 2009).

O genoma do HIV apresenta aproximadamente 10 kb de comprimento. Os genes que codificam proteínas estruturais e enzimas comuns a todos os retrovírus são conhecidos por *gag* (antígeno grupo específico), *pol* (polimerase) e *env*

(envelope) (PETERLIN; TRONO, 2003). O gene *gag* codifica as proteínas da matriz proteica e do capsídeo viral, o gene *pol* codifica as enzimas transcriptase reversa, protease e integrase e o gene *env*, as glicoproteínas do envelope: a glicoproteína transmembrana gp41 e a de superfície gp120 (BRASIL, 2013a). Outros genes apresentam função regulatória ou assessória. Os considerados regulatórios são o *tat*, que é um transativador transcrricional e o *rev*, que regula a expressão gênica; os acessórios são conhecidos como *nef*, *vif*, *vpu* e *vpr*. A importância desses genes está relacionada ao controle da replicação viral e infectividade (BRASIL, 2013a; PETERLIN; TRONO, 2003). A estrutura do HIV está representada na Figura 1.

Figura 1 - Estrutura do HIV-1. Adaptado de Brasil (2013a).

1.1.3 História natural da infecção pelo HIV

Assim que a transmissão ocorre, a gp120 do HIV liga-se ao receptor CD4 da célula-alvo, o que desencadeia alterações conformacionais na gp41. Subsequentemente há interação com o correceptor - CCR5 e/ou CXCR4 - que culmina com a fusão das membranas viral e celular (BRASIL, 2013b). Dessa forma, os vírus infectam células que possuem receptor CD4⁺ expresso em sua membrana plasmática, destacando-se os linfócitos T, macrófagos e células T de memória. Nesse momento inicia-se a fase aguda da infecção com intensa replicação viral nos órgãos linfoides, sendo a maioria das partículas virais produzidas nos linfócitos T

CD4⁺ (SABINO; BARRETO; SANABANI, 2009). Os primeiros sinais e sintomas assemelham-se a um quadro viral inespecífico, que pode não ocorrer em uma pequena parcela dos indivíduos. As manifestações incluem febre, adenopatia, faringite, exantema, mialgia e cefaleia. Também podem estar presentes a linfadenomegalia, esplenomegalia, letargia, astenia, anorexia e depressão além de distúrbios digestivos, como náuseas, vômitos, diarreia, perda de peso e úlceras orais. Em torno da quarta semana após a infecção o indivíduo torna-se altamente infectante e os anticorpos anti-HIV começam a ser produzidos (BRASIL, 2013b).

Após essa fase ocorre a queda da carga viral, que coincide com o desenvolvimento de células T citotóxicas vírus-específicas (KOUP et al., 1994). Há lise das células hospedeiras com atenuação da replicação do HIV, o que favorece a manutenção do nível da carga viral constante por um período (SABINO; BARRETO; SANABANI, 2009). Inicia-se a fase assintomática, caracterizada pelo não desenvolvimento de sinais e sintomas associados à infecção pelo HIV. Se o diagnóstico não for feito nessa fase, o período entre a infecção e o aparecimento das manifestações clínicas é estimado em torno de 10 anos (ALCABES et al., 1994; BACCHETTI; MOSS, 1989; HESSOL et al., 1994).

Com o passar do tempo os pacientes apresentam depleção do número de linfócitos T CD4⁺, o que leva a um prejuízo das respostas imunes e prosseguimento à fase sintomática da doença (GURUNATHAN et al., 2009). Em pessoas saudáveis, os linfócitos T CD4⁺ variam entre 800 a 1.200 células/ μ L e são essenciais para o combate às infecções e ao desenvolvimento de cânceres (BRASIL, 2015; MARQUES; MASUR, 2009). A queda da contagem dessas células culmina na aids - que é definida a partir da identificação de infecções oportunistas e neoplasias (BRASIL, 2013b). As manifestações clínicas variam de acordo com o número de linfócitos T CD4⁺: quando o número de células está relativamente preservado surgem os sintomas constitucionais, como fadiga, náusea, febre baixa, perda ponderal; acima de 350 células/ μ L as infecções mais comuns são de origem bacteriana, como por exemplo, as infecções respiratórias e tuberculose. Com a progressão da doença, quando os linfócitos T CD4⁺ encontram-se numa faixa entre 200 e 300 células/ μ L, tornam-se mais frequentes os sintomas constitucionais, as infecções bacterianas, além de desenvolvimento de diarreia crônica, cefaleia, alterações neurológicas e lesões orais (BRASIL, 2013b; MARQUES; MASUR, 2009).

Abaixo de 200 células/ μ L, os pacientes tornam-se mais vulneráveis às infecções oportunistas, sendo as de maior expressão, a pneumocistose, toxoplasmose, tuberculose pulmonar atípica ou disseminada, meningite criptocócica, retinite por citomegalovírus, esofagite por *Candida* e infecção disseminada por *Mycobacterium avium*. Dentre as neoplasias, as mais comuns são o sarcoma de Kaposi, os linfomas não-Hodgkin e câncer de colo do útero. O vírus também pode causar doenças por danos diretos a certos órgãos ou por processos imunológicos, incluindo demência, cardiomiopatia, nefropatia, pneumonite intersticial não específica e trombocitopenia (BRASIL, 2013b; MARQUES; MASUR, 2009).

1.1.4 Diagnóstico

No Brasil, o diagnóstico da infecção pelo HIV-1 é regulamentado pela Portaria n.º 29 da Secretaria de Vigilância em Saúde de 17 de dezembro de 2013 (BRASIL, 2013c).

Foram propostos cinco fluxogramas de diagnóstico, porém três deles são de escolha preferencial, pois combinam testes mais modernos, possuem melhor custo-efetividade e possibilidade de tornar o diagnóstico mais rápido. O primeiro fluxograma propõe o uso de dois testes rápidos (TR1 e TR2) realizados em sequência com amostras de sangue. Em uma primeira avaliação, caso o resultado seja positivo, a amostra deve ser submetida novamente ao teste rápido. Se nos dois testes o resultado for positivo, a amostra será considerada reagente para o HIV. No caso de haver discordância entre os dois testes, esses devem ser repetidos, e, persistindo a discordância, uma amostra deve ser colhida por punção venosa e encaminhada para o diagnóstico pelos métodos laboratoriais (BRASIL, 2013a). O TR é recomendado, dentre outras situações, a redes de serviços de saúde sem infraestrutura laboratorial ou localizadas em regiões de difícil acesso, em Programas do Ministério da Saúde, em Centros de Testagem e Aconselhamento (CTA) e Unidade de Testagem Móvel, em casos de acidentes ocupacionais, em gestantes que não tenham sido testadas durante o pré-natal e segmentos populacionais mais vulneráveis (BRASIL, 2013a).

O segundo fluxograma preconiza a realização de um teste rápido utilizando fluido oral (TR-FO) seguido por um teste rápido utilizando amostra de sangue. É recomendado que seja realizado fora das unidades de saúde, principalmente em campanhas de testagem e em populações de alta vulnerabilidade (BRASIL, 2013a). O terceiro fluxograma é o que permite a maior precocidade diagnóstica. Estabelece a realização de um exame de triagem com um imunoensaio de 4ª geração, que detecta simultaneamente antígeno e anticorpo, e o uso do teste molecular como teste complementar/confirmatório (BRASIL, 2013a). O teste molecular, conhecido como teste de ácido nucleico (NAT), possibilita o diagnóstico antes da detecção de anticorpos, pela amplificação do material genético do vírus. Devido a essa característica, é o exame utilizado em bancos de sangue (BRASIL, 2013a).

Todos os serviços de saúde que disponibilizam a possibilidade diagnóstica devem garantir a testagem anônima (BRASIL, 2013c).

1.1.5 Tratamento

A terapia medicamentosa contra o HIV não consegue a erradicação da infecção, mas possui como objetivos primários reduzir a morbidade relacionada ao HIV, prolongar a duração e a qualidade de vida, restaurar e/ou preservar as funções imunológicas, suprimir a carga viral e prevenir a sua transmissão. Diante dos benefícios clínicos, alcance dos objetivos da terapia e melhor tolerabilidade às drogas, novos critérios para o tratamento estão sendo estabelecidos, sendo o mais valioso seu início precoce (BRASIL, 2013b).

O Ministério da Saúde brasileiro atualmente recomenda que a terapia antirretroviral (TARV) seja iniciada em todas as pessoas vivendo com HIV/aids, a partir do diagnóstico, independentemente da contagem de linfócitos T CD4⁺ (BRASIL, 2013b).

As classes e os medicamentos antirretrovirais (ARV) disponíveis no país são:

- Inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN) - Abacavir, Didanosina, Lamivudina, Zidovudina e a combinação Lamivudina/Zidovudina.

- Inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleotídeos (ITRNt) – Tenofovir.
- Inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos (ITRNN) – Efavirenz, Nevirapina e Etravirina.
- Inibidores de Protease (IP) – Atazanavir, Darunavir, Fosamprenavir, Indinavir, a combinação Lopinavir/ritonavir, Ritonavir, Saquinavir e Tipranavir.
- Inibidores de fusão – Enfuvirtida.
- Inibidores da Integrase – Raltegravir e Dolutegravir.
- Antagonistas de correceptores CCR5 – Maraviroque (BRASIL, 2013b).

A decisão do início da TARV deve ser feita em conjunto com o paciente, alertando-o sobre seus benefícios e riscos, além da necessidade de aderência ao tratamento. O esquema inicial de medicamentos deve incluir combinações de três antirretrovirais: dois ITRN/ITRNt associados a um ITRNN, sendo essa a primeira linha de tratamento, ou a combinação de dois ITRN + IP/ritonavir, como a segunda opção. Os medicamentos de terceira linha – darunavir, tipranavir, raltegravir, etravirina, enfuvirtida e maraviroque – só são recomendados nas situações em que houver falha virológica confirmada e resistência a pelo menos um antirretroviral de cada uma das três classes (ITRN, ITRNN e IP) identificada em teste de genotipagem realizado no máximo há 12 meses. Também estão indicados quando houver interação medicamentosa no caso de coinfeção HIV/HCV durante o tratamento da hepatite C (BRASIL, 2013b). A escolha dos medicamentos precisa ser particularizada para cada paciente e necessita-se levar em consideração fatores como a sua eficácia, toxicidade, custo, presença de coinfeções e comorbidades, dentre outros (BRASIL, 2013b).

1.1.6 Profilaxia

Vários esforços vêm sendo realizados com vistas ao desenvolvimento e aplicação de estratégias voltadas à prevenção de novas contaminações pelo HIV. As pesquisas para o desenvolvimento de uma vacina eficiente contra o vírus continuam,

bem como para a confecção de microbicidas capazes de prevenir a contaminação sexual (NIH, 2013).

Um estudo inédito no Brasil sobre profilaxia pré-exposição (PrEP) foi anunciado pelo Ministério da Saúde. Esse tipo de profilaxia consiste no fornecimento de medicamentos ARV a pessoas que apresentam alto risco de contaminação, a fim de impedir a infecção (BRASIL, 2013d).

Outras medidas que já se mostraram eficazes continuam sendo incentivadas, como a introdução do tratamento antirretroviral a partir do diagnóstico, o estímulo para aderência à terapia - ambas visando redução da carga viral e diminuindo o risco de transmissão - tratamento de gestantes para a prevenção de transmissão materno-infantil, conscientização de mudanças comportamentais que reduzam situações de risco, disponibilização e orientação do uso de insumos de prevenção como seringas, agulhas e preservativos e a realização da profilaxia pós-exposição (PEP) utilizada em casos de acidentes ocupacionais de profissionais da saúde e em falhas de prevenção nos casos de exposição sexual (BRASIL, 2013b, 2013d; WHO, 2013).

1.2 O vírus da hepatite C

O vírus da hepatite C (*Hepatitis C virus* - HCV) pertence à família Flaviviridae. Desde a sua identificação até o fim da década de 1980 foi chamado de vírus causador da hepatite não-A não-B, pois era frequentemente encontrado em casos de infecções pós-transfusionais. Esses casos não possuíam os vírus das hepatites A e B como agentes infecciosos, uma vez que métodos diagnósticos específicos para esses vírus já haviam sido desenvolvidos na década de 1970 (CHOO et al., 1989). Diante disso, em 1974, foi sugerida a existência de um vírus adicional da hepatite (PRINCE et al., 1974). Com o avanço das pesquisas em biologia molecular, Choo et al. (1989) identificaram seu genoma e denominaram-no de vírus da hepatite C.

A hepatite C é reconhecida como uma das principais causas de doença hepática crônica no mundo. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que cerca de 130 a 150 milhões de pessoas estejam cronicamente infectadas pelo HCV

globalmente, com número de óbitos que podem variar de 350 a 500 mil casos anuais (WHO, 2014b).

No Brasil, foram notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) 82.041 casos de hepatite C entre os anos de 1999 e 2011, sendo 67,3% concentrados na região sudeste, e a maioria (60,1%) em homens. Dos 55.222 casos notificados na região sudeste, 84,5% encontravam-se no estado de São Paulo (BRASIL, 2012). Conforme levantamento realizado pelo Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE) do estado, o Grupo de Vigilância Epidemiológica (GVE) de Ribeirão Preto notificou 2.628 casos de hepatite C no período de 2000 a 2012, ocupando o quinto lugar em número de casos notificados dentre os demais grupos de vigilância de São Paulo (SÃO PAULO, 2013).

1.2.1 Transmissão do HCV

O HCV é mais eficientemente transmitido por exposição parenteral a sangue ou hemoderivados. A transfusão de sangue contaminado foi uma significativa forma de transmissão até o início da década de 90, quando foi introduzido o teste de rastreamento em doadores (BRASIL, 1993). O mesmo ocorreu com a transmissão por transplantes de órgãos até a metade da mesma década, e a cada evolução dos testes diagnósticos, observa-se diminuição progressiva desses casos (BRASIL, 2008).

O principal modo de transmissão do HCV atualmente é por meio do uso de drogas. Isso acontece quando ocorre o compartilhamento de materiais no uso das injetáveis (sendo as mais comuns cocaína, anabolizantes e complexos vitamínicos), inaláveis (cocaína) e pipadas (crack) (BRASIL, 2008, 2010; CDC, 2014b).

Dentre os complexos vitamínicos, o uso do estimulante injetável Glucoenergan® com material não descartável constituiu-se importante forma de contaminação pelo HCV no Brasil, com destaque na região de Ribeirão Preto (PASSOS et al., 2008).

Outras formas de exposição percutânea que podem levar à transmissão do vírus incluem a realização de procedimentos médicos e odontológicos invasivos, tatuagem e colocação de *piercings*. Ademais, a exposição ocupacional percutânea

ou em mucosas e a transmissão no período perinatal – no momento do parto ou logo após - também são formas de transmissão conhecidas. Embora existam relatos, o compartilhamento de objetos de higiene pessoal como lâminas de barbear e alicates de unha e a via sexual são considerados meios menos frequentes de infecção. O risco de contaminação por via sexual deve ser considerado principalmente em pessoas com múltiplos parceiros e com prática sexual de risco acrescido, tornando-se maior na coexistência de alguma doença sexualmente transmissível e também na presença do HIV (BRASIL, 2010; CDC, 2014b; FOCACCIA; GALANTE; OLIVEIRA, 2009a).

1.2.2 Estrutura e organização genômica do HCV

O HCV é um pequeno vírus envelopado, com cerca de 55 a 65 nm de diâmetro (KAITO et al., 1994). Apresenta um nucleocapsídeo recoberto por uma membrana lipídica, onde estão ancoradas as glicoproteínas do envelope viral E1 e E2 (PENIN et al., 2004). Seu genoma é formado por RNA de fita simples com cerca de 10.000 nucleotídeos e codifica uma poliproteína de pouco mais de 3.000 aminoácidos. Apresenta em suas extremidades as regiões 5' e 3' não traduzidas (*untranslated regions* - UTRs), necessárias para a replicação viral e o início da tradução (BARONE, 2009; JOYCE; TYRRELL, 2010). Após a tradução no retículo endoplasmático rugoso, a poliproteína precursora é clivada em 10 proteínas pela ação de proteases virais e do hospedeiro (JOYCE; TYRRELL, 2010). Essas proteínas são divididas em três estruturais e sete não estruturais (ISHII; KOZIEL, 2008). Dentre as estruturais estão as proteínas do nucleocapsídeo ou *core* e as proteínas do envelope viral E1 e E2. As proteínas não estruturais são identificadas como p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B e têm funções essenciais na replicação viral e processamento da poliproteína precursora (ISHII; KOZIEL, 2008; PENIN et al., 2004). A estrutura do HCV está representada na Figura 2.

Figura 2 - A estrutura do HCV. Adaptado de Roe e Hall (2008), com autorização do autor.

O HCV apresenta grande variabilidade genética (FORNS; PURCELL; BUKH, 1999). Sete diferentes genótipos foram identificados e classificados pelos números de 1 a 7, além de um grande número de subtipos, identificados por letras minúsculas (a, b, c, etc.) (SCHEEL; RICE, 2013; SIMMONDS et al., 2005). O genótipo 1 é o mais prevalente em todo o mundo. Uma grande revisão envolvendo países da Europa, África, Américas e Oceania, dentre eles o Brasil, revelou a maior prevalência desse genótipo em 14 dos 16 países analisados (BRUGGMANN et al., 2014). A distribuição genotípica no Brasil concorda com essa prevalência, com 67,7% dos casos notificados pertencentes ao genótipo 1 (BRASIL, 2012). Na prática clínica os genótipos estão relacionados com a taxa de sucesso ao tratamento (MONDELLI; SILINI, 1999).

1.2.3 História natural da infecção pelo HCV

Após a transmissão do HCV, os sintomas de infecção aguda se manifestam em cerca de um terço das pessoas acometidas, com média do período de incubação de sete semanas e de identificação dos sintomas de duas a 12 semanas (FOCACCIA; GALANTE; OLIVEIRA, 2009a, 2009b).

O aumento dos níveis séricos do RNA-HCV (ácido ribonucleico do vírus da hepatite C), assim como posteriormente, das aminotransferases, coincide com o início dos sintomas que incluem icterícia e outras manifestações como anorexia,

astenia, mal-estar, colúria, acolia e dor abdominal, indicando lesão hepática (BERTOLETTI; FERRARI, 2003; BRASIL, 2011).

A resolução espontânea da infecção aguda ocorre em cerca de 20% dos casos, e devido à inespecificidade do quadro, a maioria dos pacientes pode permanecer assintomática e a fase aguda passar despercebida. Os demais 80% evoluirão para a fase crônica da doença, definida pela persistência do RNA-HCV após seis meses da transmissão do vírus (BRASIL, 2011). A evolução da hepatite crônica é lenta, geralmente assintomática nas primeiras décadas da infecção. Nesse momento, o diagnóstico pode ser estabelecido ocasionalmente em testes de rotina ou em doações de sangue (VALENTE; COVAS; PASSOS, 2005).

A cronicidade da infecção é associada com os vários graus de inflamação hepática e progressão da fibrose nesse órgão (EUROPEAN ASSOCIATION OF THE STUDY OF THE LIVER, 2012). Alguns fatores, ligados ao vírus, hospedeiro e externos, podem interferir na evolução da hepatite C, dentre eles, carga viral, genótipo do HCV, idade na aquisição da infecção, coinfeções com o vírus da hepatite B (*Hepatitis B virus* - HBV) ou HIV, hepatopatias, ingestão de álcool, tabagismo, dentre outros (FOCACCIA; GALANTE; OLIVEIRA, 2009a). Os sintomas surgem de acordo com o grau de evolução da fibrose - pequenos sangramentos, hematomas pós-traumas e posteriormente espontâneos, edema de membros inferiores, além de possíveis manifestações extra-hepáticas. Os níveis avançados de fibrose culminam nas complicações mais severas da doença: a cirrose e o carcinoma hepatocelular (CHC) (FOCACCIA; GALANTE; OLIVEIRA, 2009a). A evolução da infecção pelo HCV é exposta na Figura 3.

Nos casos mais graves de cirrose estão evidenciadas as complicações secundárias à insuficiência hepática, caracterizadas pela icterícia, varizes hemorrágicas, ascite e encefalopatia. Nessa fase, há um risco aumentado de mortalidade e necessidade de transplante de fígado. Os casos de CHC ocorrem, usualmente, nos portadores de cirrose hepática (AFDHAL, 2004).

Figura 3. Evolução da infecção pelo HCV (CDC, 2014b).

1.2.3.1 Imunopatogênese

O fígado é permanentemente irrigado pelo sangue proveniente do trato digestivo, o que faz com que participe ativamente do reconhecimento e combate aos antígenos, tanto pela resposta imune inata quanto pela adaptativa (BARONE, 2009; HERNANDEZ-GEA; FRIEDMAN, 2011) e ambas desempenham um papel importante na modulação da fibrose hepática (HERNANDEZ-GEA; FRIEDMAN, 2011).

A primeira linha de defesa contra o HCV é realizada pelas células *natural killer* (NK), ativadas pelo interferon tipo 1 (alfa e beta), liberado pelas células hepáticas infectadas (FALLAHI et al., 2012). Macrófagos e células dendríticas (CDs) também participam do controle precoce da infecção por meio da secreção de quimiocinas e citocinas (GUIDOTTI; CHISARI, 2001). Citocinas são pequenas proteínas solúveis secretadas por células do sistema imune e têm como função estimular respostas das células participantes dos processos de imunidade e inflamação (STEINKE; BORISH, 2006). Os macrófagos e as CDs secretam as citocinas pró-inflamatórias como a

interleucina (IL) -12 e IL-18, que induzem a produção de interferon gama (IFN- γ), e de outras citocinas como a IL-1, IL-6 e fator de necrose tumoral alfa (*Tumour necrosis fator-alpha* - TNF- α), que podem desempenhar efeitos antivirais diretos e indiretos (GUIDOTTI; CHISARI, 2001). As CDs, ainda, executam o processamento e a apresentação dos antígenos às células do sistema imune adaptativo pelo complexo principal de histocompatibilidade (*Major histocompatibility complex* - MHC). No linfonodo, as células T específicas reconhecem o complexo peptídeo viral-MHC e são ativadas (CHARO; RANSOHOFF, 2006; FALLAHI et al., 2012).

Os linfócitos T CD4⁺ após o reconhecimento do antígeno apresentado pelo MHC de classe II desempenham várias funções efetoras como ativação direta de macrófagos e células B antígeno-específicas e a ativação dos linfócitos T CD8⁺, via citocinas (NEUMANN-HAEFELIN et al., 2005).

Os linfócitos T CD8⁺, por sua vez, reconhecem antígenos apresentados pelo MHC de classe I presente na superfície das células infectadas e agem exterminando-as por citotoxicidade, que é sua função reconhecida há mais tempo, mas também desempenham funções efetoras não citolíticas pela secreção de citocinas como o IFN- γ e TNF- α , que podem controlar a infecção viral sem matar a célula (GUIDOTTI; CHISARI, 2001; NEUMANN-HAEFELIN et al., 2005). A falha na defesa primária das células T, o escape viral por mutações, disfunções das células T ou a falta dessas células no fígado são alguns fatores que podem contribuir para a persistência do HCV, progredindo para a infecção crônica (NEUMANN-HAEFELIN et al., 2005).

1.2.3.2 Citocinas

Os mecanismos imunológicos pelos quais ocorre o desenvolvimento da fibrose hepática não são totalmente compreendidos, mas a participação das citocinas inflamatórias nesse processo é inquestionável. Várias citocinas presentes nas respostas imunes agem como mediadoras na inflamação (HERNANDEZ-GEA; FRIEDMAN, 2011) e colaboram com a estimulação das células produtoras de matriz

extracelular no fígado, culminando na fibrose do tecido (RAMADORI; SAILE, 2004). Neste trabalho, serão estudadas particularmente, o TNF- α , o IFN- γ e a IL-18.

O TNF- α é uma citocina pró-inflamatória secretada principalmente por macrófagos e linfócitos T, com participação nas respostas agudas e crônicas, sendo uma de suas principais funções a defesa do hospedeiro contra as infecções virais, bacterianas, fúngicas e parasitárias (BRADLEY, 2008). Sua produção é um dos primeiros acontecimentos em muitos tipos de lesões hepáticas, levando à consequente produção de outras citocinas que, conjuntamente, recrutam células inflamatórias, matam hepatócitos e iniciam a resposta que inclui o começo do desenvolvimento de fibrose. A contribuição do TNF- α no desencadeamento da fibrose hepática pode estar relacionada com sua propriedade de ativar as células de Kupffer e macrófagos residentes no fígado que secretam o fator de crescimento transformador beta (*Transforming growth factor-beta* - TGF- β), mediador chave da fibrogênese por ser um fator de ativação das células estreladas hepáticas (CEHs) (TILG; KASER; MOSCHEN, 2006). As CEHs, por sua vez, foram identificadas como as principais células produtoras de colágeno no fígado (FRIEDMAN et al., 1985).

Diversos estudos relacionaram a participação do TNF- α nas lesões hepáticas relacionadas à hepatite C. Neuman et al. (2002) dosaram os níveis da citocina no soro de pacientes com ausência ou mínimo grau de fibrose e mínima atividade histológica no início do estudo e após três anos, constatando que o TNF- α reflete a progressão da inflamação do fígado.

Recente trabalho brasileiro dosou níveis séricos do TNF- α em grupos de pacientes que apresentavam fibrose leve, grave e CHC e identificaram níveis mais altos da citocina no grupo diagnosticado com CHC em relação aos demais (AROCHA et al., 2013). Níveis mais altos de TNF- α também foram identificados no plasma de pacientes com avançado grau de fibrose em relação àqueles com graus mais leves (CRESPO et al., 2002) e no soro de pacientes com hepatite C em relação aos não infectados (AKCAM et al., 2012).

O IFN- γ , também conhecido como interferon tipo 2, é produzido por células NK e T NK como parte da resposta da imunidade inata, e pelos linfócitos T antígeno-específicos – CD4⁺ Th1 e linfócitos T CD8⁺ citotóxicos (HEIM, 2013), podendo assim, ser liberado durante diferentes estágios da infecção. Diante disso, os dados sobre a participação do IFN- γ na cronificação da doença hepática encontram-se um

pouco conflitantes. A secreção de IFN- γ , além de outras citocinas Th1 produzidas pelos linfócitos T CD4⁺, favorece o recrutamento de neutrófilos e macrófagos resultando na resposta inflamatória (FALLAHI et al., 2012) e a resposta do tipo Th1 tem sido associada com o clareamento viral, ou seja, resolução da infecção na fase aguda, e proteção contra a progressão da doença (ROSEN et al., 2002a). Nesse sentido, Baroni et al. (1996) demonstraram em um modelo de experimentação animal a contribuição do IFN- γ na redução do depósito de matriz extracelular pela inibição da ativação das CEHs. Entretanto, células Th1 produtoras de IFN- γ também foram identificadas no tecido hepático na infecção crônica (BERTOLETTI et al., 1997).

Um estudo que analisou a expressão intra-hepática de RNA mensageiro (RNAm) de citocinas do tipo Th1 e Th2 em pacientes com hepatite C crônica e em controles e correlacionou os resultados com a histologia hepática, identificou que houve aumento da expressão do RNAm das citocinas do tipo Th1, IL-2 e IFN- γ , em pacientes com cirrose em relação aos sem cirrose e naqueles com hepatite crônica sem cirrose em relação ao tecido hepático normal (NAPOLI et al., 1996). Ademais, houve correlação positiva entre a expressão do RNAm da IL-2 e IFN- γ e a severidade da inflamação e fibrose hepática. Em contraste, na avaliação das citocinas do tipo Th2, a expressão do RNAm da IL-10 foi reduzida nos pacientes com infecção crônica com e sem cirrose quando comparados aos controles e baixa expressão do RNAm da IL-4 foi encontrada em todos os grupos (NAPOLI et al., 1996). Os autores sugerem que, apesar de existirem dados sobre as propriedades antifibróticas do IFN- γ , suas ações na hepatite C crônica como citocina pró-inflamatória anulam qualquer papel que poderia desempenhar na limitação do processo fibrótico (NAPOLI et al., 1996). Com relação à dosagem de níveis séricos dessa citocina, não foram identificados níveis significativos de diferença entre pacientes com infecção pelo HCV e controles saudáveis (AKCAM et al., 2012; BANSAL et al., 1997).

A IL-18 é uma citocina sintetizada por células de Kupffer e macrófagos ativados, conhecida por ser um coindutor da produção de IFN- γ e desempenhar importante papel na resposta Th1 (DINARELLO, 1999; OKAMURA et al., 1995; USHIO et al., 1996). O envolvimento dessa citocina nas doenças hepáticas inflamatórias é descrito há algum tempo (TSUTSUI et al., 2000). Sharma et al.

(2009) ao avaliarem a possível participação da IL-18 na patogênese do HCV constataram uma estreita relação entre os níveis circulantes da citocina com a severidade da infecção pelo vírus. Os níveis séricos médios da IL-18 estavam elevados em pacientes com hepatite crônica e cirrose quando comparados com os controles saudáveis e esses níveis também estavam positivamente relacionados com a atividade necroinflamatória avaliada nas biópsias. Além disso, foi identificado aumento da expressão do RNAm da IL-18 em células mononucleares do sangue periférico de pacientes com cirrose em relação aos outros grupos e aumento dos níveis dos transcritos da IL-18 no tecido hepático dos pacientes com hepatite C crônica quando comparados com os controles saudáveis. Os autores alegam que os resultados confirmam a atividade pró-inflamatória da IL-18 e que a sua regulação positiva atua no desenvolvimento da cronicidade e acelera a evolução da hepatite crônica em direção à cirrose (SHARMA et al., 2009). Adicionalmente, outro estudo identificou níveis elevados de IL-18 no soro de pacientes com hepatite C crônica em relação aos indivíduos sem a infecção (AKCAM et al., 2012).

1.2.3.3 Fibrose hepática

O parênquima hepático normal é constituído majoritariamente pelos hepatócitos, seguido em proporções bem menores pelas células endoteliais, e células não parenquimatosas como as CEHs, células de Kupffer, linfócitos T e B e células NK (BARONE, 2009; HERNANDEZ-GEA; FRIEDMAN, 2011). O sinusóide é a unidade microvascular hepática e o estreito espaço que o separa dos hepatócitos é chamado espaço de Disse, onde se encontram as CEHs (HERNANDEZ-GEA; FRIEDMAN, 2011).

A fibrose hepática é uma alteração estrutural do fígado, decorrente de lesões crônicas. Ocorre devido ao acúmulo de matriz extracelular, composta de colágeno e outras proteínas, no espaço de Disse. Há distorção da arquitetura hepática pela substituição do parênquima do órgão por tecido cicatricial, e, em fase mais avançada, desenvolvimento de nódulos de regeneração rodeados por septos fibrosos, caracterizando a cirrose (BATALLER; BRENNER, 2005; HERNANDEZ-GEA; FRIEDMAN, 2011). Assim, a biópsia torna-se fundamental para a investigação

do dano ao tecido hepático e para a definição de necessidade de tratamento (BRASIL, 2011).

Existem diversos sistemas de classificação para graduação e estadiamento das hepatites crônicas a partir da biópsia. Dentre eles, a classificação METAVIR é uma das mais utilizadas e indicadas para essa avaliação (BEDOSSA; POYNARD, 1996).

O METAVIR é composto por um sistema de codificação formado por letras e números no qual a letra A corresponde à atividade histológica (necroinflamação) e a letra F à fibrose. No que tange à atividade histológica, A0 significa ausência de atividade, A1 atividade branda, A2 atividade moderada e A3 atividade severa. Em relação à fibrose, F0 indica ausência de fibrose, F1 presença de fibrose portal sem septos, F2 fibrose portal com raros septos, F3 numerosos septos sem cirrose e F4 cirrose hepática (BEDOSSA; POYNARD, 1996).

1.2.4 Diagnóstico

O diagnóstico da hepatite C pode ser feito por teste sorológico, que detecta a presença de anticorpos anti-HCV ou a combinação do antígeno com o anticorpo do HCV. É recomendado para a triagem na suspeita de infecção, e, quando reagente, deve ser confirmado por testes moleculares (BRASIL, 2011). Os testes moleculares, por sua vez, detectam a presença do RNA-HCV pela sua amplificação e podem ser qualitativos, pela detecção somente da presença do RNA do vírus, ou quantitativos, pela quantificação do RNA viral. O método quantitativo é indicado para o monitoramento da infecção (BRASIL, 2011).

1.2.5 Tratamento

O tratamento medicamentoso na fase aguda da infecção pelo HCV tem como objetivo reduzir o risco de progressão para hepatite crônica e, quanto mais precoce

a detecção da infecção e início do tratamento, melhores as taxas de sucesso (BRASIL, 2011).

Na hepatite C crônica, a biópsia colabora com a decisão de iniciar o tratamento. Sendo assim, pacientes que possuam fibrose maior ou igual a F2 independente da atividade inflamatória ou atividade inflamatória maior ou igual a A2 com presença de fibrose maior ou igual a F1, de acordo com a classificação METAVIR, têm a indicação do tratamento. Os que possuem manifestações extra-hepáticas relacionadas ao HCV podem ser tratados sem influência do resultado da biópsia e os pacientes com cirrose identificada por sinais clínicos e/ou evidências ecográficas possuem indicação de tratamento sem necessidade de realizá-la (BRASIL, 2011).

Os medicamentos utilizados há mais tempo no tratamento da hepatite C crônica são o interferon convencional alfa-2a ou alfa-2b, o interferon peguillado (PEG-IFN) alfa-2a ou alfa-2b e a Ribavirina (RBV). Os esquemas para a terapia compreendem pelo menos um dos interferons que pode ou não ser associado à RBV. A restrição ao uso da RBV, ou a sua prescrição mais criteriosa, se dá nos pacientes com insuficiência renal, devido à redução da capacidade de excreção da droga (BRASIL, 2011).

A escolha do esquema terapêutico, inclusive do tempo de duração do tratamento que pode ser de até 72 semanas, sofre grande influência do tipo de genótipo do vírus, uma vez que o genótipo 1 apresenta piores taxas de resposta em relação aos demais (FOCACCIA; OLIVEIRA; GALANTE, 2009). Diante disso, antivirais pertencentes à classe de inibidores da protease foram recomendados para o tratamento exclusivo de pacientes monoinfectados com HCV e com o genótipo 1 do vírus, com fibrose avançada (METAVIR F3 e F4) ou cirrose compensada, compondo dessa forma uma terapia tripla (BRASIL, 2013e). São as drogas Boceprevir (BOC) e Telaprevir (TVR). Novos tratamentos antivirais diretos em esquemas sem interferon, realizados em um menor período de tempo e com altas taxas de cura da infecção já estão em uso nos EUA e na Europa. No Brasil, os medicamentos Sofosbuvir, Daclatasvir e Simeprevir foram aprovados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) no início de 2015.

Com o tratamento espera-se alcançar a resposta virológica sustentada (RVS) que consiste em níveis indetectáveis de RNA-HCV no plasma 24 semanas após o seu término. Insucesso na terapia é verificado na resposta virológica não sustentada

(RVNS), ou recidiva virológica, caracterizada pelo RNA-HCV indetectável ao fim do tratamento mas detectável seis meses após e também na ausência de resposta – quando o paciente não apresenta queda de pelo menos dois Log do valor do HCV-RNA pré-tratamento na 12^a semana de tratamento (BRASIL, 2011).

Existem evidências de que a expressão de citocinas também está relacionada com a resposta ao tratamento. Uma vez que desempenham importante papel na defesa contra as infecções virais, o sucesso do tratamento da hepatite C depende de um equilíbrio complexo entre as respostas pró e anti-inflamatórias. Embora ainda não exista consenso em relação à influência que exerçam, níveis aumentados na produção das citocinas pró-inflamatórias, dentre elas o IFN- γ , a IL-18 e o TNF- α , foram identificados em pacientes que apresentaram a RVS (PAR et al., 2013; YONEDA et al., 2011; ZHANG et al., 2014).

A terapia medicamentosa não é isenta de riscos e deve ser acompanhada frequentemente por exames laboratoriais (BRASIL, 2011). Algumas reações adversas muito comuns são os sintomas parecidos com os da infecção gripal e as alterações hematológicas como anemia, plaquetopenia e neutropenia. Todavia, não deixam de ser raras disfunções da tireoide, alterações metabólicas, neurológicas, psiquiátricas, cutâneas, gastrintestinais e maior susceptibilidade às infecções (FOCACCIA; OLIVEIRA; GALANTE, 2009).

O enfrentamento das reações adversas decorrentes do tratamento medicamentoso da hepatite C é muito árduo para os pacientes. O conjunto de reações é variável entre os sujeitos: ora são passíveis de tolerância, ora torna-se necessária a interrupção do tratamento, por indicação médica, devido à exacerbação dos sinais e sintomas apresentados. Em algumas situações, mesmo sabendo dos riscos, os pacientes optam pelo abandono da terapia.

Uma vez que os cuidados de enfermagem permeiam todas as fases do tratamento, há a necessidade da assistência sistematizada e especializada a esses pacientes para auxiliá-los a superar as dificuldades e obterem a RVS.

1.2.5.1 Exames complementares para monitoramento

Com maior frequência, o diagnóstico da hepatite C é estabelecido na fase crônica e alguns exames são essenciais para a avaliação inicial dos pacientes. O teste de genotipagem – que identifica a caracterização genotípica do vírus - é necessário para a definição da estratégia de tratamento e deve ser feito assim que o diagnóstico for confirmado (BRASIL, 2011).

Com relação aos exames laboratoriais, estão recomendados: hemograma completo com contagem de plaquetas; alanina aminotransferase (ALT); aspartato aminotransferase (AST); fosfatase alcalina; gama-glutamilttransferase (GGT); tempo de protrombina; bilirrubinas; albumina; creatinina; glicemia de jejum; hormônio tireoestimulante (TSH); testagem para HIV (anti-HIV 1/2); sorologia para hepatites A e B; urina tipo I; exame parasitológico de fezes; ultrassonografia abdominal e endoscopia digestiva alta na suspeita de hipertensão portal (BRASIL, 2011). Alguns desses exames são também recomendados para acompanhamento durante todo o período de tratamento e possivelmente, após o seu término.

1.2.6 Profilaxia

Diferente de outras hepatites virais, como a A e a B, não existe vacina contra a hepatite C. Dessa forma, a prevenção necessita ser implementada pelas medidas primária e secundária. A prevenção primária visa reduzir ou eliminar a transmissão do HCV, e o aconselhamento de populações vulneráveis é uma das principais medidas de redução de riscos. Na prevenção secundária, o objetivo é interromper a progressão da doença em portadores do HCV, primeiro pela identificação desses indivíduos e após, pelo oferecimento de assistência adequada (CDC, 2010).

1.3 A coinfeção HIV/HVC

Recentemente, o Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS (UNAIDS) expressou a necessidade de atenção prioritária às pessoas com a coinfeção HIV/HCV. Das 35 milhões de pessoas vivendo com o HIV, cerca de

quatro a cinco milhões estão também coinfectadas pelo HCV (UNAIDS, 2014). No Brasil, 9,7% dos casos de hepatite C notificados no SINAN em 2011 estavam associados ao HIV/aids, com predomínio de detecção na faixa etária de 40 a 44 anos (BRASIL, 2012). A taxa média de prevalência da coinfecção pelo HCV em indivíduos que vivem com o HIV foi estimada em 20,3% segundo trabalho de revisão que envolveu estudos conduzidos no Brasil com populações de diversas regiões do país (KUEHLKAMP; SCHUELTER-TREVISOL, 2013). No estado de São Paulo, um levantamento realizado entre os anos de 2007 e 2011 revelou que a proporção de pacientes coinfectados dentre todos os casos notificados de hepatite C nesse período variou de 15% em 2007 a aproximadamente 12%, em 2011. A maioria dos casos foi identificada em pessoas do sexo masculino (72%) e a faixa etária entre 40 e 49 anos correspondeu a 42% das notificações (SÃO PAULO, 2012).

Devido às formas similares de transmissão, a coinfecção HIV/HCV é comum, especialmente entre usuários de drogas injetáveis, situação em que as taxas de prevalência podem ser superiores a 90% (HERNANDEZ; SHERMAN, 2011).

Com o advento da TARV houve diminuição das afecções relacionadas à aids, entretanto, identifica-se grande taxa de mortalidade em doenças não diretamente ligadas à síndrome (LEWDEN et al., 2005). Nesse sentido, a infecção crônica pelo HCV mostra-se como uma importante causa de morte relacionada às complicações hepáticas em indivíduos portadores do HIV (WEBER et al., 2006).

A infecção pelo HCV tende à cronicidade em até 90% dos pacientes infectados também pelo HIV (HERNANDEZ; SHERMAN, 2011). Esses pacientes, em relação aos monoinfectados pelo HCV, apresentam progressão acelerada da fibrose hepática, com consequente maior prevalência de níveis avançados de fibrose e cirrose (DE LEDINGHEN et al., 2008).

A patogênese do processo de aceleração da fibrose entre pacientes coinfectados pelos HIV/HCV é complexa e multifatorial. Algumas vias que participam desse processo foram propostas, incluindo efeitos virais diretos, desregulação do sistema imunológico, depleção dos linfócitos T CD4⁺ no trato gastrointestinal relacionada à imunopatogênese do HIV com consequente translocação microbiana, além de estresse oxidativo, apoptose dos hepatócitos e esteatose hepática (KIM; CHUNG, 2009; STERLING et al., 2008).

Pacientes coinfectados apresentam menor resposta de linfócitos T HCV-específicos, o que pressupõe que a imunossupressão induzida pelo HIV

compromete a resposta imune a outros patógenos virais (CAPA et al., 2007). Com a disfunção dos linfócitos T, ocorre o aumento dos níveis de RNA-HCV, com progressão para a fase crônica da infecção (HERNANDEZ; SHERMAN, 2011).

A exposição das CEHs ao HIV resulta no aumento da expressão de colágeno tipo I, característico do fígado cirrótico, e na secreção da quimiocina pró-inflamatória proteína quimiotática de monócitos 1 (*Monocyte chemoattractant protein-1* - MCP-1), levando à compreensão de que o vírus exerce efeitos pró-inflamatórios e fibrogênicos diretos sobre essas células (TUYAMA et al., 2010). Adicionalmente, o HIV pode induzir a apoptose de hepatócitos (VLAHAKIS et al., 2003) e aumentar a replicação do HCV e a expressão de TGF- β 1, contribuindo para a progressão da fibrose hepática (LIN et al., 2008).

Outra via que poderia contribuir para o avanço desse processo é a do ligante indutor de apoptose relacionado ao TNF (*Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand* - TRAIL), ou Apo-2L, que também induz a apoptose de hepatócitos (JO et al., 2000). O ciclo contínuo de morte e regeneração dos hepatócitos pode colaborar com o desenvolvimento de fibrose (KIM; CHUNG, 2009). Além das vias já citadas, o efeito da translocação bacteriana merece destaque na contribuição ao dano hepático. A infecção pelo HIV leva a uma depleção do tecido linfoide associado ao trato gastrointestinal, ocasionando a ruptura do epitélio e a translocação microbiana, com consequentes níveis aumentados de lipopolissacarídeo (LPS) plasmático. O LPS pode desencadear a cascata de fibrogênese pela ativação da resposta imune (LIN; WEINBERG; CHUNG, 2013).

Além dessas atuações, o HIV pode produzir defeitos qualitativos nas respostas imunes pela alteração do perfil de secreção de citocinas (HERNANDEZ; SHERMAN, 2011). Alguns estudos avaliaram os níveis intra-hepáticos de RNAm de citocinas entre pacientes monoinfectados pelo HCV e coinfectados, dentre elas o IFN- γ e o TNF- α . Os achados divergem tanto em relação aos níveis de TNF- α (BLACKARD et al., 2006; SITIA et al., 2006) quanto os de IFN- γ entre os dois grupos de pacientes (ABBATE et al., 2004; BLACKARD et al., 2006; GONZALEZ et al., 2008; KUNTZEN et al., 2008; SITIA et al., 2006). Adicionalmente, linfócitos T HIV-específicos produtores de TNF- α e IFN- γ foram identificados no fígado de pacientes coinfectados e, dentre os *naïve* de tratamento ARV, foi demonstrada a frequência aumentada de linfócitos T CD8⁺ produtores de TNF- α (VALI et al., 2008).

Tanto no grupo de monoinfectados pelo HCV quanto no grupo de coinfectados, os linfócitos T HCV-específicos foram menos funcionais comparados aos HIV-específicos (VALI et al., 2008). Esse acúmulo de linfócitos T HIV-específicos no tecido durante a coinfeção sugere o papel do HIV como indutor da rápida progressão da doença hepática (VALI et al., 2008). Nenhum estudo sobre os níveis de IL-18 nessas situações foi encontrado.

Com relação aos possíveis efeitos do HCV na progressão da doença relacionada à infecção pelo HIV, sugere-se que a maior contribuição do HCV para a mortalidade dos indivíduos coinfectados esteja relacionada à doença hepática acelerada e não às complicações relacionadas à aids (KIM; CHUNG, 2009).

Sendo assim, há a recomendação de que a TARV seja iniciada o mais precocemente possível nos pacientes coinfectados, uma vez que seu uso efetivo é associado com taxas mais lentas de progressão da fibrose hepática (MACIAS et al., 2009). Entretanto, existe a possibilidade de hepatotoxicidade pelo uso dessas drogas, o que torna-se um fator complicador no tratamento das infecções (JONES; NUNEZ, 2011).

Para o tratamento medicamentoso da infecção pelo HCV nos pacientes coinfectados, a biópsia hepática é facultativa (BRASIL, 2011). As condições para o início do tratamento necessitam compreender a estabilização clínica do paciente pela ausência de infecções oportunistas nos últimos seis meses, a estabilidade imunológica – pela contagem de linfócitos T CD4⁺ maior que 200 células/mm³ e a comprovação de TARV efetiva com supressão da replicação viral e ausência de falha terapêutica (BRASIL, 2011).

Para os assintomáticos com número de linfócitos T CD4⁺ maior que 500 células/mm³ indica-se iniciar o tratamento da hepatite; para os assintomáticos com linfócitos T CD4⁺ entre 500 e 350 células/mm³ recomenda-se iniciar a TARV *a priori* e avaliar individualmente a introdução do tratamento para hepatite C; nos sintomáticos ou assintomáticos com número de linfócitos T CD4⁺ menor que 350 células/mm³ indica-se iniciar a TARV e considerar a possibilidade do tratamento da hepatite C após a estabilização do paciente (BRASIL, 2011). Na hepatite C crônica, o esquema recomendado para os pacientes coinfectados é a associação de PEG-IFN com RBV pelo período de 48 a 72 semanas, independentemente do genótipo do HCV. Caso haja resultado de biópsia e a classificação for Fibrose menor ou igual a 1

(METAVIR), a decisão para o início do tratamento poderá ser adiada (BRASIL, 2011).

1.3.1 Polimorfismos das citocinas IL-18, IFN- γ e TNF- α na coinfeção HIV/HCV

Estudos de susceptibilidade genética a eventos ou doenças, especialmente às doenças infecciosas, são descritos há algum tempo, e têm se intensificado com os avanços tecnológicos (HILL, 2006). Várias disciplinas na área biomédica desenvolvem esse tipo de pesquisa, que vem ganhando cada vez mais espaço na prática de enfermagem (CONLEY et al., 2013).

Como exposto anteriormente, os níveis de citocinas inflamatórias podem influenciar o curso da doença hepática e a resposta ao tratamento da hepatite C; dessa forma, estudos de polimorfismos genéticos relacionados com seus níveis de produção fazem-se necessários.

O gene da IL-18 apresenta em sua região promotora vários polimorfismos e está localizado no cromossomo 11 (NOLAN; GREAVES; WALDMANN, 1998). Dois polimorfismos de nucleotídeo único (*single nucleotide polymorphisms* - SNPs) localizados nas posições -607 (rs1946518) Citosina/Adenina (C/A) e -137 (rs187238) Guanina/Citosina (G/C) na região promotora do gene da IL-18 são largamente conhecidos por influenciarem os níveis de produção da citocina. Indivíduos homozigotos para os alelos -607C e -137G expressam altos níveis de IL-18 enquanto que, na presença dos alelos -607A e -137C, a atividade da região promotora é diminuída (GIEDRAITIS et al., 2001).

O gene do IFN- γ encontra-se no cromossomo 12(q24.1) (TRENT; OLSON; LAWN, 1982). Com relação à sua produção, um SNP com contribuição importante nesta função está localizado na posição +874 (rs2430561) Timina/Adenina (T/A) no primeiro íntron do gene. Esse polimorfismo gera três possíveis genótipos – A/A, T/A e T/T. A presença do alelo T está relacionada à alta produção da citocina, ao passo que o contrário é identificado com o alelo A (PRAVICA et al., 2000).

O gene do TNF- α está localizado no cromossomo 6p21 (HAJEER; HUTCHINSON, 2001). Dois dos polimorfismos mais estudados com referência à sua

produção são compostos por SNPs localizados na região promotora do gene nas posições -208 (rs361525) e -308 (rs1800629). Esses polimorfismos são marcados pela substituição de G por A nas duas posições. A presença do alelo A na posição -308 está relacionada com o aumento da transcrição do TNF (KROEGER; CARVILLE; ABRAHAM, 1997).

Existem várias pesquisas de associação dos polimorfismos dessas citocinas na infecção tanto pelo HIV quanto pelo HCV (BOUZGARROU et al., 2011; CASTELAR et al., 2010; SILVA et al., 2010). Entretanto, na literatura indexada, não foram identificados estudos que tipificaram e compararam os polimorfismos do TNF- α , da IL-18 e do IFN- γ em quatro populações em um mesmo relato: indivíduos monoinfectados pelo HIV, monoinfectados pelo HCV, coinfectados pelos HIV e HCV e indivíduos saudáveis. Também, até o momento, não existem trabalhos descritos sobre a associação dos alelos e genótipos desses polimorfismos entre portadores do HCV e coinfectados com o grau de atividade necroinflamatória e fibrose hepática apresentados pelos pacientes. No que diz respeito ao tratamento da hepatite C, não foi investigada a influência dos polimorfismos da IL-18 e do IFN- γ nos tipos de respostas dos pacientes com a coinfeção HIV/HCV. Com relação à assistência de enfermagem, ainda há escassez de material especializado sobre os cuidados a indivíduos coinfectados.

Diante do exposto, o presente estudo torna-se inédito e relevante para melhor compreender o comportamento da coinfeção HIV/HCV e colaborar com estratégias para o enfrentamento dessa condição.

Hipótese

2 HIPÓTESE

Uma vez que alelos específicos estão relacionados à maior expressão das citocinas IL-18, IFN- γ e TNF- α , e que tais citocinas apresentam participação na progressão da fibrose hepática e na resposta ao tratamento da hepatite C, para este estudo foi estabelecida como principal a seguinte hipótese: existe relação dos alelos e genótipos dos polimorfismos da IL-18 (SNPs -607 e -137), do IFN- γ (SNP +874) e do TNF- α (SNPs -308 e -238) com a gravidade da doença hepática e com o tipo de resposta ao tratamento da hepatite C em pacientes portadores da coinfeção HIV/HCV.

Objetivos

3 OBJETIVOS

- Caracterizar os sujeitos do estudo segundo as variáveis sociodemográficas e clínicas;
- Tipificar e comparar alelos e genótipos dos polimorfismos da IL-18 (SNPs -607 e -137), do IFN- γ (SNP +874) e do TNF- α (SNPs -308 e -238) em pacientes com a coinfeção HIV/HCV, monoinfeção pelo HIV, monoinfeção pelo HCV e em indivíduos saudáveis;
- Identificar haplótipos envolvendo os SNPs da IL-18 e do TNF- α em pacientes com a coinfeção HIV/HCV, monoinfeção pelo HIV, monoinfeção pelo HCV e em indivíduos saudáveis, e realizar a comparação entre os grupos;
- Investigar a associação dos alelos e genótipos dos polimorfismos da IL-18 (SNPs -607 e -137), IFN- γ (SNP +874) e TNF- α (SNPs -308 e -238) com:
 - a) o grau de atividade necroinflamatória do fígado;
 - b) o grau de fibrose hepática;
 - c) o tipo de resposta ao tratamento da hepatite C;em portadores da coinfeção HIV/HCV e da monoinfeção pelo HCV e realizar a comparação intra e entre grupos;
- Identificar os sinais e sintomas relacionados às reações adversas do tratamento da hepatite C, fornecendo subsídios para a elaboração de um plano sistematizado de assistência de enfermagem aos pacientes portadores da coinfeção HIV/HCV.

Material e Métodos

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Delineamento do estudo e aspectos éticos

Estudo de caráter descritivo correlacional, do tipo transversal, na avaliação das características sociodemográficas, clínicas, laboratoriais e histológicas. Na avaliação dos polimorfismos genéticos, apresenta metodologia de caso-controle.

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto (EERP) conforme o processo nº 1324/2011 (Anexo A), com ciência e concordância do CEP do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP (HCFMRP-USP) (Anexo B). Conforme solicitado ao CEP, houve dispensa da apresentação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) aos participantes não encontrados, visto que no estudo foram utilizadas amostras biológicas previamente armazenadas, colhidas de muitos pacientes que evoluíram ao óbito devido ao agravamento de suas condições de saúde. As amostras oriundas dos pacientes portadores da coinfeção HIV/HCV e do HCV foram provenientes do Banco de Amostra Biológica do Departamento de Clínica Médica – Divisão de Gastroenterologia do HCFMRP-USP, aprovado de acordo com o processo nº 3416/2003 (Anexo C). As amostras de sujeitos portadores do HIV e dos indivíduos saudáveis foram provenientes do Banco de Amostras do Núcleo de Pesquisa em Imunogenética (BANPI) do HCFMRP-USP, aprovado de acordo com o processo nº 7581/2007 (Anexo D). O TCLE foi apresentado, fornecido e assinado pelos pacientes encontrados conforme resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (Apêndice A).

4.2 Local do estudo

O presente trabalho foi realizado com os pacientes atendidos no ambulatório de Hepatites e Imunodeficiência da Unidade Especial de Tratamento em Doenças

Infecciosas (UETDI), no ambulatório da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida da UETDI e no ambulatório de Gastroenterologia, todos no HCFMRP-USP.

A etapa que envolveu o processamento laboratorial das amostras biológicas desenvolveu-se no Laboratório de Imunologia Molecular sediado no mesmo hospital.

4.3 Cálculo amostral

Para o cálculo do tamanho amostral, foram considerados os seguintes parâmetros estatísticos: nível de significância (α) igual a 0,05 e poder do teste ($1-\beta$) igual a 0,8; por se tratar de estudo de associação envolvendo doença que apresenta diferentes fatores envolvidos em sua patologia, considerou-se diferença de 20% na frequência alélica entre os grupos. Esses valores foram inseridos no *software Proportion Difference Power/Sample Size Calculation* (2009), sendo estimados 97 alelos/haplótipos (aproximadamente 49 sujeitos) ou 97 genótipos em cada um dos grupos a serem analisados.

4.4 Seleção dos participantes

Foram selecionadas para o estudo quatro populações:

Grupo coinfeção HIV/HCV: 100 indivíduos com diagnóstico das infecções pelos HIV e HCV, recrutados no ambulatório de Hepatites e Imunodeficiência da UETDI do HCFMRP-USP. Critérios de inclusão: idade igual ou superior a 18 anos; positividade para anti-HIV determinada pelo método sorológico ELISA; positividade para anti-HCV determinada pelo método sorológico ELISA e do RNA-HCV pela reação em cadeia da polimerase (PCR) há mais de seis meses; apresentação de avaliação do grau de lesão hepática pela biópsia hepática ou diagnóstico de cirrose hepática por avaliação clínica, laboratorial e por exames de imagem; amostra de ácido desoxirribonucleico (DNA) armazenada no Banco de Amostra Biológica do Departamento de Clínica Médica – Divisão de Gastroenterologia. Critérios de

exclusão: sorologias positivas para os demais tipos de hepatites virais, presença de hepatite autoimune ou medicamentosa e CHC.

Grupo monoinfecção pelo HIV: 100 indivíduos com diagnóstico de infecção pelo HIV, recrutados nos ambulatórios da UETDI do HCFMRP-USP. Critérios de inclusão: idade igual ou superior a 18 anos; positividade para anti-HIV determinada pelo método sorológico ELISA; amostra de DNA armazenada no BANPI. Critérios de exclusão: sorologias positivas para todos os tipos de hepatites virais e presença de hepatite autoimune ou medicamentosa.

Grupo monoinfecção pelo HCV: 100 indivíduos com diagnóstico de infecção pelo HCV, recrutados no ambulatório de Gastroenterologia do HCFMRP-USP. Critérios de inclusão: idade igual ou superior a 18 anos; positividade para anti-HCV determinada pelo método sorológico ELISA e do RNA-HCV pela PCR há mais de seis meses; apresentação de avaliação do grau de lesão hepática pela biópsia hepática ou diagnóstico de cirrose hepática por avaliação clínica, laboratorial e por exames de imagem; amostra de DNA armazenada no Banco de Amostra Biológica do Departamento de Clínica Médica – Divisão de Gastroenterologia. Critérios de exclusão: sorologias positivas para o HIV e demais tipos de hepatites virais, presença de hepatite autoimune ou medicamentosa e CHC.

Grupo controles saudáveis: 100 indivíduos sem histórico de doenças infectocontagiosas, crônicas e/ou autoimunes, cadastrados no Registro Nacional de Doadores de Medula Óssea (REDOME) pelo Hemocentro de Ribeirão Preto. Critérios de inclusão: idade igual ou superior a 18 anos; amostra de DNA armazenada no BANPI.

4.5 Coleta dos dados sociodemográficos, clínicos, laboratoriais e das biópsias hepáticas

Os dados sociodemográficos, clínicos e laboratoriais dos pacientes incluídos, assim como os dados referentes à biópsia hepática foram coletados por meio de consulta aos prontuários médicos e ao sistema informatizado do HCFMRP-USP, durante o período de janeiro de 2012 a junho de 2013. Para isso, utilizou-se um instrumento submetido previamente à validação aparente e de conteúdo por três

juízes com saber na área de atenção aos pacientes coinfectados pelos HIV/HCV, com a seguinte formação acadêmica: 1) Médico gastroenterologista atuante no ambulatório de Hepatites e Imunodeficiência da UETDI, Mestre e doutorando em Investigação Clínica; 2) Médico infectologista, atuante no ambulatório de Hepatites e Imunodeficiência da UETDI, Doutor em Clínica Médica; 3) Médica infectologista, atuante no ambulatório de Hepatites e Imunodeficiência da UETDI. Os juízes analisaram o instrumento e sugeriram alterações relacionadas com o alcance dos objetivos propostos, sendo dessa forma, acatadas.

O instrumento foi elaborado de forma a permitir a coleta de dados dos quatro grupos participantes, e os campos preenchidos conforme a especificidade de cada um (Apêndice B). As variáveis sociodemográficas estudadas foram: idade (calculada pela diferença entre a data da coleta dos dados e a data de nascimento, em anos); cor da pele e sexo. As variáveis clínicas coletadas foram: peso – em quilogramas - (kg); altura – em metros - (m); índice de massa corporal (IMC), calculado pela divisão do valor do peso pela altura ao quadrado e analisado segundo classificação da OMS – abaixo do peso < 18,5; faixa normal entre 18,5 e 24,9; acima do peso $\geq 25,0$ e obesidade $\geq 30,0$ - descrito na unidade kg/m^2 (WHO, 2015); tempo de diagnóstico do HIV (em anos); possível modo de aquisição do HIV; modo de descoberta da infecção pelo HIV; tempo de tratamento com ARV (em anos); ARV em uso; tempo de diagnóstico do HCV (em anos); possível modo de aquisição do HCV; modo de descoberta da infecção pelo HCV; tempo de seguimento no ambulatório de hepatites (em anos); resposta ao tratamento da hepatite C (RVS, RVNS e ausência de resposta – caso o paciente apresentasse mais de um tratamento, a resposta do mais recente foi considerada); medicamentos utilizados para o tratamento da hepatite C; reações adversas ao tratamento da hepatite C declaradas pelos pacientes; uso de medicamento contra as reações adversas; presença de outros problemas de saúde; ingestão de álcool (calculada pela fórmula: concentração de álcool na bebida (porcentagem - %) x volume ingerido (mililitros – mL) x 0,8/100, descrita na unidade gramas (g), a ingestão alcoólica foi considerada abusiva quando maior que 40 g/dia para homens e 20 g/dia para mulheres). Os seguintes resultados dos exames laboratoriais foram avaliados: carga viral do HIV pré-tratamento da hepatite C; número de linfócitos T CD4⁺ pré-tratamento da hepatite C; carga viral do HIV atual; número de linfócitos T CD4⁺ atual; número de linfócitos T CD8⁺ atual; carga viral do HCV pré-tratamento; genótipo do HCV; GGT,

AST, ALT, colesterol total, triglicérides, TSH, glicemia, albumina, bilirrubina total, direta e indireta, plaquetas, *International normalized ratio* (INR) e alfafetoproteína. Com relação à biópsia hepática, foram coletados os seguintes dados: idade do paciente na biópsia (calculada pela diferença entre a data da biópsia e a data de nascimento); classificação METAVIR (atividade necroinflamatória classificada entre A0, A1, A2 e A3 e fibrose classificada entre F0, F1, F2, F3 e F4); presença de cirrose hepática. Caso o paciente apresentasse mais de uma biópsia hepática, a mais recente foi elencada para esse trabalho. Os pacientes foram analisados considerando-se a a gravidade da doença hepática sendo agrupados de acordo com a atividade necroinflamatória em A0A1 e A2A3 e de acordo com a gravidade da fibrose em F0-F2 e F3F4. Os resultados das biópsias foram oriundos dos exames realizados como protocolo do atendimento do hospital, e nenhuma foi realizada em decorrência desse estudo. As biópsias com laudos que não se encontravam descritos na classificação METAVIR foram revisadas por uma única patologista experiente e reclassificadas. Os procedimentos para obtenção dos dados referentes aos polimorfismos genéticos são descritos a seguir.

4.6 Procedimentos para determinação dos polimorfismos genéticos

Como descrito anteriormente, para a determinação dos polimorfismos nos quatro grupos estudados, foram utilizadas amostras biológicas de DNA provenientes do BANPI e do Banco de Amostra Biológica do Departamento de Clínica Médica – Divisão de Gastroenterologia, localizados no HCFMRP-USP. Essas amostras encontravam-se em *freezer*, estocadas a -20 graus Celsius (°C).

4.6.1 Coleta do sangue venoso periférico, técnica de extração do DNA e armazenamento das amostras

A amostra biológica de cada indivíduo foi obtida pela coleta de 10 mL de sangue por meio de punção venosa periférica a vácuo, em tubos preenchidos com EDTA K3

(Becton, Dickinson and Company) enquanto os pacientes aguardavam pelo atendimento médico nos ambulatórios, e nos casos dos indivíduos saudáveis, durante o processo de cadastro para doação de medula óssea.

Após a coleta do sangue periférico, prosseguiu-se à extração do DNA pela técnica de *salting-out*, baseada no procedimento descrito por Miller, Dykes e Polesky (1988). Em resumo, foram seguidos os seguintes passos: a um tubo de polipropileno foram transferidos os 10 mL de sangue total e acrescentados quatro volumes de tampão de lise de células vermelhas (sacarose 3M, TRIS-HCl 10 mM, MgCl 5 mM e TRITON X100 a 1%). Procedeu-se à homogeneização da solução, centrifugação a 2400xg por 5 minutos a 4°C e ao descarte do sobrenadante. Ao precipitado foram adicionados 5,0 mL de tampão de lise de células brancas (NaCl 0,075 M, Na₂EDTA 0,024 M, NaClO₄H₂O 25 mM e SDS a 2,5%) e a solução foi agitada por 10 segundos. Posteriormente, foram acrescentados 2,0 mL de NaCl a 6,0 M, agitando-se o tubo vigorosamente por 15 segundos, para a extração das proteínas. Em seguida, realizou-se a centrifugação a 1500xg por 5 minutos à temperatura ambiente e o recolhimento do sobrenadante em um tubo de polipropileno com adição de 7,0 mL de isopropanol absoluto. O DNA precipitou com a inversão manual lenta da solução, sendo retirado com auxílio de pipeta Pasteur. Após, foi lavado em 3,0 mL de etanol a 70% por duas vezes e dissolvido em um volume entre 100 e 300 µL (microlitros) de água bidestilada deionizada esterilizada (H₂Odd). O material foi estocado a -20°C até o momento da análise (CASTELAR, 2008). Após a inclusão dos sujeitos no estudo, as amostras foram separadas para o processamento.

4.6.2 Tipificação dos polimorfismos dos SNPs -607 C/A e -137 G/C da IL-18

Reações de amplificação do DNA

Para as reações de amplificação da região promotora do gene da IL-18 (SNPs -607 C/A e -137 G/C) foi utilizada a técnica da Reação em Cadeia da Polimerase com iniciadores de sequência específica (*polymerase chain reaction with sequence-specific primers* – PCR-SSP). Os reagentes para cada loco tipificado foram

colocados em microtubos de 0,2 mL, atingindo o volume final de 10 µL. Os reagentes e as concentrações finais utilizadas para a amplificação dos dois SNPs (-607 C/A e -137 G/C) estão listados na Tabela 1. Os iniciadores específicos para o SNP -607 estão descritos na Tabela 2 e para o SNP -137 estão descritos na Tabela 3. As condições de amplificação estão listadas nas Tabelas 4 e 5. As reações foram feitas em um termociclador Applied Biosystems 9700.

Tabela 1 - Concentrações de reagentes utilizados para a amplificação dos SNPs -607 e -137 da IL-18

Reagente	Concentração
H ₂ O ^{dd}	
Tampão ^a	1x
MgCl ₂	1,5 mM
dNTP	0,25 mM
HGBA.S ^b	2 pmol
HGBA.A ^b	2 pmol
607C ou 607A ^{b*}	3 pmol
137C ou 137G ^{b#}	3 pmol
607.2 ^{b*} /137.2 ^{b#}	3 pmol
Taq polimerase	0,75 U
DNA	200 ng
Volume final	10 µL

^a(20 mM Tris-Cl, pH 8.4, 50 mM KCl); MgCl₂: cloreto de magnésio; dNTP 2'deoxinucleosídeo 5' trifosfato (Pharmacia Biotech, Paris, France); ^b *primers* (Invitrogen, Carlsbad, CA); *iniciadores do SNP -607 C/A; #iniciadores do SNP -137 G/C; HGBA: gene da hemoglobina humana; mM: milimolar; pmol: picomol; Taq polimerase (Invitrogen, Carlsbad, CA); U: unidades; ng: nanogramas; µL: microlitros (CASTELAR, 2008).

Tabela 2 - Iniciadores para detecção dos alelos do SNP -607 C/A da IL-18

Iniciadores	Sequência (5'- 3')	Amplicon	Alvo	Referência
IL-18 607.2 IL-18 Genérico	TAACCTCATTGAGGACTTCC			
IL-18 607C IL-18 Específico	GTTGCAGAAAGTGTAATAATTATTAC	196 pb	IL-18 -607 C/A	(GIEDRAITIS et al., 2001)
IL-18 607A IL-18 Específico	GTTGCAGAAAGTGTAATAATTATTAA			
HGBA.S	CGGTATTTGGAGGTCAGCAC	456 / 436 pb	Controle	Laboratório de Imunologia Molecular HCFMRP-USP
HGBA.A	CCCACCACCAAGACCTACTT		Controle	Laboratório de Imunologia Molecular HCFMRP-USP

pb: pares de bases.

Tabela 3 - Iniciadores para detecção dos alelos do SNP -137 G/C da IL-18

Iniciadores	Sequência (5'- 3')	Amplicon	Alvo	Referência
IL-18 137.2 IL-18 Genérico	AGGAGGGCAAAATGCACTGG			
IL-18 137C IL-18 Específico	CCCCAACTTTTACGGAAGAAAAC	261 pb	IL-18 -137 G/C	(GIEDRAITIS et al., 2001)
IL-18 137G IL-18 Específico	CCCCAACTTTTACGGAAGAAAAG			
HGBA.S	CGGTATTTGGAGGTCAGCAC	456 / 436 pb	Controle	Laboratório de Imunologia Molecular HCFMRP-USP
HGBA.A	CCCACCACCAAGACCTACTT		Controle	Laboratório de Imunologia Molecular HCFMRP-USP

pb: pares de bases.

Tabela 4 - Condições de amplificação do SNP -607 da IL-18

Temperatura	Tempo	Ciclos
94°C	3 minutos	1 vez
94°C	20 segundos	7 vezes
64°C	40 segundos	
72°C	40 segundos	
94°C	20 segundos	25 vezes
57°C	40 segundos	
72°C	40 segundos	
72°C	5 minutos	1 vez
4°C	∞	

∞: infinito (CASTELAR, 2008).

Tabela 5 - Condições de amplificação do SNP -137 da IL-18

Temperatura	Tempo	Ciclos
94°C	3 minutos	1 vez
94°C	20 segundos	5 vezes
68°C	60 segundos	
94°C	20 segundos	25 vezes
62°C	20 segundos	
72°C	40 segundos	
72°C	5 minutos	1 vez
4°C	∞	

∞: infinito (CASTELAR, 2008).

4.6.3 Tipificação do polimorfismo do SNP +874 T/A do IFN- γ

Reações de amplificação do DNA

As reações de amplificação do SNP +874 T/A do IFN- γ foram realizadas pela técnica de PCR-SSP. Os reagentes para cada loco foram colocados em microtubos de 0,2 mL, atingindo o volume final de 10 μ L. As reações foram feitas em um termociclador Applied Biosystems 9700. Os reagentes e as concentrações finais utilizadas para a amplificação do SNP +874 estão descritos na Tabela 6. Os

iniciadores específicos para essa região estão expostos na Tabela 7 e as condições de amplificação, na Tabela 8.

Tabela 6 - Concentrações de reagentes utilizados para a amplificação do SNP +874 do IFN- γ

Reagente	Concentração
H ₂ Odd	
Tampão ^a	1x
MgCl ₂	1,5 mM
dNTP	0,3 mM
GH1 ^b	0,5 pmol
GH2 ^b	0,5 pmol
IFN- γ T ou IFN- γ A ^b	2,5 pmol
IFN- γ genérico ^b	2,5 pmol
Taq polimerase	0,25 U
DNA	200 ng
Volume final	10 μ L

^a(20 mM Tris-Cl, pH 8.4, 50 mM KCl); MgCl₂: cloreto de magnésio; dNTP 2'deoxinucleosídeo 5' trifosfato (Pharmacia Biotech, Paris, France); ^b *primers* (Invitrogen, Carlsbad, CA); GH: gene do hormônio do crescimento humano; mM: milimolar; pmol: picomol; U: unidades; Taq polimerase (Invitrogen, Carlsbad, CA); ng: nanogramas; μ L: microlitros (CASTELAR, 2008).

Tabela 7 - Iniciadores para detecção dos alelos do SNP +874 do IFN- γ

Iniciadores	Sequência (5'- 3')	Amplícon	Alvo	Referência
IFN- γ 874 genérico IFN- γ Genérico	TCAACAAAGCTGATACTCCA			
IFN- γ 874 T IFN- γ Específico	TTCTTACAACACAAAATCAAATCT	262 pb	IFN- γ +874 T/A	(PRAVICA et al., 2000)
IFN- γ 874 A IFN- γ Específico	TTCTTACAACACAAAATCAAATCA			
GH1	GCCTTCCCAACCATTCCCTTA	426 pb	Controle	Laboratório de Imunologia Molecular HCFMRP-USP
GH2	TCACGGATTTCTGTTGTGTTTC		Controle	Laboratório de Imunologia Molecular HCFMRP-USP

pb:pares de bases.

Tabela 8 - Condições de amplificação do SNP +874 do IFN- γ

Temperatura	Tempo	Ciclos
95°C	1 minuto	1 vez
95°C	15 segundos	10 vezes
62°C	50 segundos	
72°C	40 segundos	
95°C	20 segundos	20 vezes
56°C	50 segundos	
72°C	50 segundos	
72°C	10 minutos	1 vez
4°C	∞	

∞ : infinito (CASTELAR, 2008).

4.6.4 Tipificação dos polimorfismos dos SNPs -308 G/A e -238 G/A do TNF- α

Reações de amplificação do DNA

As reações de amplificação dos SNPs -308 G/A e -238 G/A do TNF- α foram realizadas pela técnica de PCR-SSP. As reações foram feitas em um termociclador Applied Biosystems 9700. Os reagentes e as concentrações finais utilizadas para a amplificação dos dois SNPs (-308 G/A e -238 G/A) estão apresentados na Tabela 9. Os iniciadores específicos para cada variante estão descritos nas Tabelas 10 e 11 e as condições de amplificação, na Tabela 12.

Tabela 9 - Concentrações de reagentes utilizados para a amplificação dos SNPs -308 e -238 do TNF- α

Reagente	Concentração
H ₂ O	
Tampão ^a	1 x
MgCl ₂	1,5 mM
dNTP	0,25 mM
HGBA.S ^b	2 pmol
HGBA.A ^b	2 pmol
308G ou 308A ^{b*}	3 pmol
238G ou 238A ^{b#}	3 pmol
308.2 ^{b*} /238 UP ^{b#}	3 pmol
Taq polimerase	0,75 U
DNA	100 ng
Volume final	10 μ L

^a(20 mM Tris-Cl, pH 8.4, 50 mM KCl); MgCl₂: cloreto de magnésio; dNTP 2'deoxinucleosídeo 5' trifosfato (Pharmacia Biotech, Paris, France); ^b *primers* (Invitrogen, Carlsbad, CA); *iniciadores do SNP -308G/A; #iniciadores do SNP -238G/A; HGBA: gene da hemoglobina humana; mM: milimolar; pmol: picomol; Taq polimerase (Invitrogen, Carlsbad, CA); U: unidades; ng: nanogramas; μ L: microlitros (SILVA, 2008).

Tabela 10 - Iniciadores para detecção dos alelos do SNP -308 do TNF- α

Iniciadores	Sequência (5'- 3')	Amplicon	Alvo	Referência
TNF α 308.2 TNF Genérico	CAGCGGAAACTTCCTTGGT			(TUGLULAR; BERTHOUX; BERTHOUX, 2003)
TNF α 308G TNF Específico	ATAGGTTTTGAGGGGCATGG	259 pb	TNF -308 G/A	(MARSH et al., 2003)
TNF α 308A TNF Específico	ATAGGTTTTGAGGGGCATGA			(MARSH et al., 2003)
HGBA.S	CGGTATTTGGAGGTCAGCAC	456 / 436 pb	Controle	Laboratório de Imunologia Molecular HCFMRP-USP
HGBA.A	CCCACCACCAAGACCTACTT		Controle	Laboratório de Imunologia Molecular HCFMRP-USP

pb: pares de bases.

Tabela 11 - Iniciadores para detecção dos alelos do SNP -238 do TNF- α

Iniciadores	Sequência (5' - 3')	Amplicon	Alvo	Referência
TNF 238 UP TNF Genérico	AGGCAATAGGTTTTGAGGG	175 pb	TNF -238 G/A	(TUGLULAR; BERTHOUX; BERTHOUX, 2003)
TNFAS238G TNF Específico	CCCCATCCTCCCTGCTCC			(MARSH et al., 2003)
TNFAS238A TNF Específico	TCCCCATCCTCCCTGCTCT			(MARSH et al., 2003)
HGBA.S	CGGTATTTGGAGGTCAGCAC	456 / 436 pb	Controle	Laboratório de Imunologia Molecular HCFMRP-USP
HGBA.A	CCCACCACCAAGACCTACTT		Controle	Laboratório de Imunologia Molecular HCFMRP-USP

pb: pares de bases.

Tabela 12 - Condições de amplificação dos SNPs -308 e -238 do TNF- α

Temperatura	Tempo	Ciclos
94°C	5 minutos	1 vez
94°C	45 segundos	32 vezes
64°C	45 segundos	
72°C	1 minuto	
72°C	5 minutos	1 vez
4°C	∞	

 ∞ : infinito (SILVA, 2008).

4.6.5 Análise do produto amplificado

Após a amplificação do DNA, os produtos das reações foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida não desnaturante a 10%. A Tabela 13 descreve os reagentes utilizados para a preparação do gel.

Tabela 13 - Reagentes e volumes utilizados para a preparação do gel de poliacrilamida não desnaturante a 10%

Reagente	Volume
Água deionizada	9,8 mL
Acrilamida + bis-acrilamida (29:1)	6,7 mL
Glicerol	1,4 mL
Tampão TBE (10x)	2,0 mL
TEMED	15 µL
Solução saturada de persulfato de potássio	300 µL
Tampão TBE (baseT/Borato/EDTA: ácido etilenodiamino tetra-acético); TEMED (Tetramethylethylenediamine)(CASTELAR, 2008).	

O gel foi preparado e imediatamente aplicado uniformemente em um cassete formado por duas placas de vidro colocadas sobre um suporte, separadas por espaçadores de teflon e presas com grampos de aço. Após a aplicação do gel entre as placas, um pente de teflon foi colocado na borda superior para a formação dos sulcos destinados à aplicação das amostras. O tempo de polimerização foi de aproximadamente 20 minutos. Após a polimerização se completar, o pente foi removido, os sulcos lavados com água e as placas montadas em uma cuba de eletroforese vertical, com tampão TBE (o mesmo utilizado na preparação do gel, diluído 10 vezes) em ambos os pólos. Nos sulcos do gel foram aplicados 5,0 µL do produto amplificado acrescidos de 6,0 µL de corante (azul de bromofenol, xilenocianol, sacarose, EDTA, TBE, formamida a 75%) com realização da eletroforese na sequência (CASTELAR, 2008). Para todos os SNPs a eletroforese ocorreu a 230 volts; o tempo de corrida foi de uma hora para os SNPs da IL-18 e do IFN- γ , para o SNP -308 do TNF- α foi de uma hora e trinta minutos e para o -238, uma hora e quinze minutos (CASTELAR, 2008; DEGHAIDE, 2007).

4.6.6 Coloração com nitrato de prata

Após a separação eletroforética o gel foi corado por impregnação pela prata para visualização das bandas. Depois de removido das placas de vidro, o gel foi transferido para um recipiente com 100 mL de solução fixadora (856 mL de álcool

etílico, 35 mL de ácido acético, água deionizada q. s. p. 5000 mL) acrescida de 1,0 mL de nitrato de prata a 20% (solução a 0,1% em água destilada) e mantido em agitação por 5 minutos, em temperatura ambiente. Em seguida, a solução fixadora com prata foi desprezada e o gel lavado com água. A água foi descartada e adicionou-se 100 mL de solução reveladora aquecida a 65°C em microondas (90 g de NaOH, água deionizada q. s. p. 4000 mL) com 1,0 mL de formaldeído. Novamente o gel foi submetido à agitação até a revelação das bandas (CASTELAR, 2008).

4.6.7 Registro dos resultados

Após a identificação das bandas, foi realizada a leitura e o registro dos resultados. Para melhor conservação, realizou-se a secagem do gel entre duas folhas de papel celofane embebidas em água, apoiado sobre uma placa de vidro, em temperatura ambiente, por um ou dois dias. A Figura 4 ilustra a mobilidade eletroforética das bandas correspondentes ao polimorfismo do SNP +874 T/A do IFN- γ no gel de poliácridamida não desnaturante a 10%.

Figura 4 - Gel de poliácridamida a 10% mostrando a mobilidade eletroforética do polimorfismo do SNP +874 do IFN- γ . A banda de 426 pb é referente ao controle interno da reação (genes do hormônio do crescimento humano, GH1/GH2). As bandas de 262 pb representam o polimorfismo T/A do SNP +874 do IFN- γ . Nota-se homozigose +874 AA em todas as amostras. Pb: pares de bases.

4.7 Análise estatística

Os dados foram armazenados em arquivos no *software* Excel 2010, em dupla digitação. As possíveis incoerências entre as duas digitações foram identificadas pela validação das planilhas e corrigidas.

Na análise dos dados sociodemográficos, clínicos e laboratoriais, as variáveis contínuas e discretas foram descritas como média. As medidas de variabilidade foram apresentadas como desvio padrão e as variáveis categóricas, como porcentagens.

Em todas as situações envolvendo variáveis quantitativas, tais variáveis não apresentaram distribuição normal. Deste modo, foram utilizados os testes não paramétricos de Mann-Whitney para a comparação de dois grupos e de Kruskal-Wallis para a comparação de três ou mais grupos. Para associação das variáveis categóricas, o teste Qui-quadrado foi utilizado. Para situações em que ocorreram categorias com valores observados menores que 5 foi utilizado o Teste exato de Fisher. Essas análises foram realizadas no programa estatístico R (TEAM, 2013).

Na análise dos polimorfismos genéticos, as frequências alélicas e genotípicas foram calculadas por contagem direta, com uso do programa ARLEQUIN 3.5.1.2 (EXCOFFIER; LISCHER, 2010). A aderência das frequências genotípicas ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) foi analisada pelo mesmo programa, com o uso do teste exato de Guo e Thompson (GUO; THOMPSON, 1992). O desequilíbrio de ligação entre os *loci* estudados foi testado por meio do teste de razão de verossimilhança (EXCOFFIER; SLATKIN, 1995) também implementado no programa ARLEQUIN 3.5.1.2 (EXCOFFIER; LISCHER, 2010).

Devido à pequena distância física entre os SNPs considerados e à presença de significativo desequilíbrio de ligação entre eles, dois programas foram utilizados para a reconstrução dos haplótipos - o programa PL-EM (QIN; NIU; LIU, 2002) e o programa PHASE 2.1 (STEPHENS; SMITH; DONNELLY, 2001). Os programas utilizados para a reconstrução dos haplótipos apresentam modelos teóricos diferentes, e o uso de ambos possibilita a comparação dos cálculos realizados entre eles (FRACASSO, 2014). Assim, após a observação dos resultados de cada método e a comparação dos valores de significância de cada reconstrução, as análises foram avaliadas como bem sucedidas e apresentaram a geração dos mesmos

haplótipos, resultando em 100% de compatibilidade entre os dois métodos. Apesar disso, uma vez que alguns indivíduos apresentaram pares de haplótipos estimados com baixa probabilidade, o que aumenta a incerteza relacionada à definição a nível individual, optou-se por utilizar as frequências populacionais de cada um dos quatro grupos analisados, geradas pelo programa PHASE.

Para avaliar associações entre as frequências dos alelos, genótipos e haplótipos foi utilizado o teste exato de Fisher bicaudal, com auxílio do programa GraphPad InStat 3.06 (GRAPHPAD SOFTWARE, 2003), que também foi utilizado para determinar a magnitude das associações, pelo cálculo de *Odds Ratio* e seu intervalo de confiança (IC) de 95%. Em todas as análises o nível de significância adotado foi de 5% ($\alpha=0,05$).

Resultados

5 RESULTADOS

5.1 Caracterização demográfica e clínica dos sujeitos

O estudo envolveu 400 indivíduos que foram divididos em números iguais pelos quatro grupos pré-estabelecidos: 100 pacientes incluídos no grupo coinfeção HIV/HCV, 100 pacientes no grupo monoinfeção pelo HIV, 100 pacientes no grupo monoinfeção pelo HCV e 100 indivíduos pertencentes ao grupo controles saudáveis. A caracterização sociodemográfica dos participantes encontra-se na Tabela 14. A caracterização segundo o resultado dos exames laboratoriais e os dados somatométricos dos pacientes dos grupos coinfeção HIV/HCV, monoinfeção pelo HIV e monoinfeção pelo HCV são descritos nas Tabelas 15 e 16, respectivamente.

Tabela 14 - Distribuição das características sociodemográficas dos participantes, segundo idade, sexo e cor da pele, de acordo com os grupos estudados. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Variáveis	Coinfeção HIV/HCV (n=100)	HIV (n=100)	HCV (n=100)	Controles saudáveis (n=100)	p-value
Idade (anos)	44,99 (7,20)	46,99 (9,11)	50,37 (9,44)	33,31 (8,18)	<0,0001*
Sexo (%)					
Masculino	75	59	78	80	0,0042**
Feminino	25	41	22	20	
Cor da pele (%)					
Branca	70	80	94	79	0,0004**
Preta	11	9	3	9	
Parda	19	11	3	11	
Amarela	0	0	0	1	

Dados apresentados em média (desvio padrão), exceto quando em porcentagem. *Teste de Kruskal-Wallis; **Teste exato de Fisher.

Para a idade, após a aplicação do teste de comparações múltiplas, não foi constatada diferença entre o par coinfeção HIV/HCV e HIV (todos os demais pares são diferentes entre si).

Tabela 15 - Distribuição dos resultados de exames laboratoriais dos pacientes de acordo com os grupos coinfeção HIV/HCV, monoinfeção pelo HIV e monoinfeção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Variáveis (valores de referência)	Coinfeção HIV/HCV	HIV	HCV	p-value*
Gama-glutamil-transferase (GGT) (11,0 – 50,0 U/L)	(n=100) 153,30 (202,75)	(n=97) 80,85 (92,39)	(n=100) 70,24 (73,82)	0,0000 ^a
Aspartato aminotransferase (AST) (< 32 U/L)	(n=99) 54,26 (41,34)	(n=100) 29,41 (35,75)	(n=100) 42,99 (41,75)	0,0000 ^a
Alanina aminotransferase (ALT) (< 31 U/L)	(n=99) 55,27 (42,09)	(n=100) 26,05 (15,27)	(n=100) 51,68 (61,27)	0,0000 ^a
Colesterol total (< 200 mg/dL)	(n=98) 163,63 (34,59)	(n=99) 189,09 (51,78)	(n=97) 160,95 (39,23)	0,0000 ^b
Triglicérides (< 150 mg/dL)	(n=98) 152,40 (107,14)	(n=99) 197,50 (123,05)	(n=97) 110,10 (58,54)	0,0000 ^a
Glicemia (70 – 100 mg/dL)	(n=100) 96,89 (38,01)	(n=98) 99,88 (27,03)	(n=97) 96,99 (23,84)	0,0539
Albumina (3,5 – 4,8 G/dL)	(n=99) 4,18 (0,48)	(n=83) 4,11 (0,49)	(n=97) 4,35 (0,43)	0,0021 ^c
Bilirrubina total (0,2 – 1,2 mg/dL)	(n=100) 1,21 (1,75)	(n=99) 0,75 (0,89)	(n=99) 0,90 (0,71)	0,0000 ^b
Bilirrubina direta	0,47 (0,89)	0,24 (0,46)	0,27 (0,26)	0,0000 ^a
Bilirrubina indireta	0,73 (0,92)	0,51 (0,69)	0,63 (0,49)	0,0000 ^b
Plaquetas (150 - 450 10 ³ /mL)	(n=100) 199,00 (81,89)	(n=99) 232,00 (73,59)	(n=99) 184,90 (71,52)	0,0001 ^b
INR (< 1,3)	(n=100) 1,0450 (0,1955)	(n=50) 1,0440 (0,1318)	(n=95) 1,0530 (0,1313)	0,2110
Alfafetoproteína (0,5 – 5,5 UI/mL)	(n=75) 7,20 (22,72)	-	(n=50) 4,63 (5,13)	0,8935
TSH (0,4 - 4,0 mil/mL)	(n=83) 2,33 (1,43)	(n=43) 2,37 (1,43)	(n=58) 3,01 (2,96)	0,6619

Dados apresentados em média (desvio padrão). *Teste de Kruskal-Wallis. No teste de comparações múltiplas: ^a: todos os grupos são diferentes entre si; ^b: o grupo HIV é diferente dos demais; ^c: o grupo HCV é diferente dos demais.

Tabela 16 - Distribuição dos dados somatométricos dos pacientes, segundo peso, altura e IMC, de acordo com os grupos coinfeção HIV/HCV, monoinfeção pelo HIV e monoinfeção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Variáveis	Coinfeção HIV/HCV	HIV	HCV	p-value*
	(n=100)	(n=96)	(n=100)	
Peso (kg)	67,31 (12,45)	70,38 (17,67)	81,43 (15,81)	<0,0001
	(n=69)	(n=20)	(n=60)	
Altura (m)	1,69 (0,08)	1,69 (0,08)	1,71 (0,10)	0,2878
	(n=69)	(n=20)	(n=60)	
IMC (kg/m ²)	23,86 (4,18)	29,61 (8,31)	28,94 (5,92)	<0,0001

Dados apresentados em média (desvio padrão). *Teste de Kruskal-Wallis.

Para o peso, após a aplicação do teste de comparações múltiplas, não foi constatada diferença entre o par coinfeção HIV/HCV e HIV (todos os demais pares são diferentes entre si); para o IMC, não foi constatada diferença entre o par HCV e HIV (todos os demais pares são diferentes entre si).

Os aspectos da infecção pelo HIV foram avaliados no grupo coinfeção HIV/HCV e no grupo monoinfeção pelo HIV. O tempo de diagnóstico da infecção pelo HIV e o tempo de tratamento com ARV nos dois grupos são revelados na Tabela 17.

Tabela 17 - Distribuição do tempo de diagnóstico da infecção pelo HIV e do tempo de tratamento com ARV, de acordo com os grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HIV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Variáveis	Coinfeção HIV/HCV	HIV	p-value*
Tempo de diagnóstico do HIV (anos)	(n=99) 13,55 (5,80)	(n=100) 12,89 (3,98)	0,3000
Tempo de tratamento com ARV (anos)	(n=90) 10,52 (4,58)	(n=97) 11,90 (3,44)	0,0353

Dados apresentados em média (desvio padrão). *Teste de Mann-Whitney.

Com relação aos possíveis modos de aquisição da infecção pelo HIV, foram identificados os fatores de risco em 88 pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV: risco sexual em 63,63% dos casos, uso de drogas injetáveis em 47,72%, uso de drogas inalatórias em 15,90% e transfusão de sangue em 10,22% dos casos; 36,36% dos pacientes apresentaram mais de um fator de risco. Foi possível identificar os fatores de risco para a transmissão do vírus em 85 pacientes do grupo monoinfecção pelo HIV, que estavam assim distribuídos: risco sexual em 92,94% dos casos, uso de drogas injetáveis em 3,52% e a transfusão de sangue em 3,52% dos casos; 3,52% dos pacientes desse grupo apresentaram mais de um fator de risco para a aquisição da infecção. O modo de descoberta da infecção pelo HIV em ambos os grupos é mostrado no Gráfico 1.

O tratamento com ARV foi identificado em 100% dos pacientes pertencentes ao grupo monoinfecção pelo HIV e em 98,0% dos pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV, com um total de 56 esquemas terapêuticos diversos entre os dois grupos. Os esquemas terapêuticos mais prevalentes em ambos os grupos são apresentados na Tabela 18.

Tabela 18 - Descrição dos esquemas terapêuticos com ARV mais prevalentes entre os pacientes dos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfecção pelo HIV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Esquema terapêutico	Coinfeção HIV/HCV (n=76) %	HIV (n=70) %
AZT, 3TC, EFZ	31,57	31,42
TDF, 3TC, EFZ	18,42	8,57
TDF, 3TC, LPV/r	13,15	12,85
AZT, 3TC, LPV/r	11,84	14,28
TDF, 3TC, ATV, RTV	9,21	7,14
d4T, 3TC, EFZ	3,94	7,14
AZT, 3TC, TDF, LPV/r	3,94	5,71
AZT, 3TC, TDF, ATV, RTV	2,63	5,71
TDF, 3TC, EFZ, LPV/r	2,63	2,85

AZT: Zidovudina; 3TC: Lamivudina; EFZ: Efavirenz; TDF: Tenofovir; LPV/r: Lopinavir/Ritonavir; ATV: Atazanavir; RTV: Ritonavir; d4T: Estavudina.

Gráfico 1 - Modo de descoberta da infecção pelo HIV entre os pacientes dos grupos coinfecção HIV/HCV e monoinfecção pelo HIV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013. Grupo coinfecção HIV/HCV $n=81$; grupo monoinfecção pelo HIV: $n=90$.

A carga viral do HIV e a contagem de linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺ referentes aos exames atuais foram avaliadas nos pacientes dos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HIV. Esses resultados são expostos na Tabela 19.

Tabela 19 - Distribuição dos resultados de exames laboratoriais, segundo carga viral do HIV, número de linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺, de acordo com os grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HIV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Variáveis	Coinfeção HIV/HCV	HIV	p-value
Carga viral do HIV (<50 cópias/mL) (%)	(n=99) 78,78	(n=99) 69,69	0,1936**
Número de linfócitos T CD4 ⁺ (cél/mm ³)	(n=93) 628,50 (310,51)	(n=99) 572,20 (368,05)	0,3034*
Número de linfócitos T CD8 ⁺ (cél/mm ³)	(n=68) 922,50 (522,94)	(n=77) 1081,00 (455,98)	0,0056*

Dados apresentados em média (desvio padrão), exceto quando em porcentagem.*Teste de Mann-Whitney; **Teste Qui-quadrado.

As comorbidades com maior prevalência entre os grupos coinfeção HIV/HCV, monoinfeção pelo HIV e monoinfeção pelo HCV foram a hipertensão arterial e o diabetes mellitus. Dentre os acometimentos relacionados aos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HIV, apresentaram destaque o diagnóstico de neurotoxoplasmose, tuberculose (nas várias formas) e a lipodistrofia. Isoladamente, no grupo monoinfeção pelo HIV, destacou-se o diagnóstico de neurocriptococose em 8,0% dos pacientes, e no grupo monoinfeção pelo HCV, o de hipotireoidismo em 7,0% dos sujeitos. As comorbidades e doenças oportunistas mais prevalentes encontram-se listadas na Tabela 20.

Tabela 20 - Distribuição das comorbidades e doenças oportunistas mais prevalentes entre os pacientes, de acordo com os grupos coinfeção HIV/HCV, monoinfeção pelo HIV e monoinfeção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Variáveis	Coinfeção HIV/HCV (n=100) %	HIV (n=100) %	HCV (n=100) %	p-value*
Hipertensão arterial	9	19	20	0,7655
Diabetes Mellitus	8	10	11	1,0000
Neurotoxoplasmose	18	16	-	0,8507
Tuberculose	17	11	-	0,3082
Lipodistrofia	8	13	-	0,3562

*Teste Qui-quadrado com correção de Yates.

Os aspectos da infecção pelo HCV foram avaliados nos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV. A distribuição dos genótipos do HCV é mostrada na Tabela 21. Os tempos de diagnóstico da infecção pelo HCV e de seguimento no ambulatório de hepatites nos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV podem ser observados na Tabela 22.

Tabela 21 - Distribuição dos genótipos do HCV entre os pacientes, de acordo com os grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Genótipo do HCV	Coinfeção HIV/HCV (n=100) %	HCV (n=100) %
1a	66	33
1b	19	18
1a/1b	3	4
3a	11	43
3c	0	1
2b	1	1

Tabela 22 - Distribuição do tempo de diagnóstico da infecção pelo HCV e de seguimento no ambulatório de hepatites, de acordo com os grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfecção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Variáveis	Coinfecção HIV/HCV	HCV	p-value*
Tempo de diagnóstico do HCV (anos)	(n=99) 10,68 (4,46)	(n=98) 11,54 (4,31)	0,2354
Tempo de seguimento no ambulatório de hepatites (anos)	(n=95) 8,34 (4,09)	(n=97) 10,68 (3,84)	0,0002

Dados apresentados em média (desvio padrão). *Teste de Mann-Whitney.

Além dos possíveis modos de aquisição do HIV já citados e que são semelhantes para o HCV, destacaram-se também para a aquisição deste último, no grupo coinfeção HIV/HCV, o uso de medicamentos injetáveis (principalmente estimulantes) com material não descartável em 9,09% dos casos e a presença de tatuagem, em 15,90% dos pacientes.

No grupo monoinfecção pelo HCV, foram identificados os fatores de risco para a aquisição desse vírus em 81 pacientes. A transfusão de sangue foi identificada em 38,27% dos casos, o risco sexual em 28,39%, uso de medicamentos injetáveis (estimulantes) com material não descartável em 24,69%, presença de tatuagem em 12,31%, uso de drogas injetáveis em 11,11%, uso de drogas inalatórias em 9,87%, acidente com material perfurocortante em 2,46% e hemodiálise em 1,23% dos casos; 34,56% dos pacientes desse grupo apresentaram mais de um fator de risco para a aquisição da infecção. O modo de descoberta da infecção por esse vírus em ambos os grupos é mostrado no Gráfico 2.

Gráfico 2 - Modo de descoberta da infecção pelo HCV entre os pacientes dos grupos coinfecção HIV/HCV e monoinfecção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013. Grupo coinfecção HIV/HCV $n=90$; grupo monoinfecção pelo HCV: $n=98$; *Após diagnóstico em amigos com os quais compartilhavam materiais perfurocortantes.

Os dados relacionados à biópsia hepática foram avaliados, incluindo idade do paciente ao realizar a biópsia, resultados de atividade necroinflamatória e fibrose na classificação METAVIR, além da porcentagem de pacientes portadores da cirrose hepática. No grupo coinfeção HIV/HCV, 13% dos pacientes receberam o diagnóstico de cirrose hepática contra 34% no grupo monoinfeção pelo HCV. Desses, cinco pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV e 17 do grupo monoinfeção pelo HCV receberam o diagnóstico pela classificação histológica e oito pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV e 17 do grupo monoinfeção pelo HCV receberam o diagnóstico pela avaliação clínica acompanhada de exames laboratoriais e de imagem. Para efeitos de comparação, os pacientes diagnosticados com cirrose hepática que não foram submetidos à biópsia foram alocados como pertencentes ao grupo de pacientes com fibrose F3F4. Esses dados podem ser visualizados na Tabela 23.

Tabela 23 - Distribuição dos dados relacionados à biópsia e ao diagnóstico de cirrose hepática, de acordo com os grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Variáveis	Coinfeção HIV/HCV	HCV	p-value
Idade do paciente na biópsia (anos)	(n=100) 39,99 (7,40)	(n=98) 43,26 (9,51)	0,0164*
Biópsia			
Atividade necroinflamatória: (%)	(n=90)	(n=74)	0,0448**
A0A1	40,00	24,32	
A2A3	60,00	75,67	
Fibrose: (%)	(n=100)	(n=100)	0,0008**
F0-F2	79,00	56,00	
F3F4	21,00	44,00	
Cirrose hepática (%)	(n=100) 13,00	(n=100) 34,00	0,0007**

Dados apresentados em média (desvio padrão), exceto quando em porcentagem. *Teste de Mann-Whitney; **Teste exato de Fisher.

Com relação ao tratamento da hepatite C, considerou-se tratados (com ou sem resposta) os pacientes que completaram integralmente o esquema de tratamento previsto ou mais de 80% da dose e do tempo previsto. Foram avaliados tipo de esquema terapêutico, o valor da carga viral do HCV previamente ao

tratamento e a resposta dos pacientes ao tratamento da hepatite C. A carga viral do HIV e o número de linfócitos T CD4⁺ previamente ao tratamento da hepatite C foram avaliados em 78 pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV. A média dos linfócitos T CD4⁺ foi igual a 598,40 cél/mm³ e 71,19% dos pacientes apresentaram carga viral indetectável. Os dados relacionados ao tratamento da hepatite C são exibidos na Tabela 24. Os resultados referentes à resposta ao tratamento conforme o tipo de genótipo do HCV no grupo coinfeção HIV/HCV encontram-se no Gráfico 3, e no grupo monoinfeção pelo HCV, no Gráfico 4.

Tabela 24 - Distribuição dos dados relacionados ao tratamento da hepatite C, de acordo com os grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV

Variáveis	Coinfeção HIV/HCV	HCV	p-value
Esquema terapêutico: (%)	(n=68)	(n=100)	
IFN convencional	0,00	1,00	0,0038**
IFN convencional + RBV	10,29	31,00	
PEG-IFN + RBV	89,70	68,00	
Carga viral do HCV pré-tratamento (UI/mL): (%)	(n=69)	(n=73)	
≤ 400.000	27,53	28,76	1,0000*
> 400.000	72,46	71,23	
Resposta ao tratamento da hepatite C: (%)	(n=100)	(n=100)	
Sem resposta	37,00	17,00	0,0004**
RVNS	10,00	15,00	
RVS	21,00	67,0	
Abandonou tratamento	9,00	0,00	
Suspenso por reação adversa grave (hematológica) ^a	5,00	1,00	
Suspenso por piora de outras patologias	2,00	0,00	
Não tratou	16,00	0,00	

IFN: Interferon; PEG-IFN: Interferon peguilado; RBV: Ribavirina; RVNS: resposta virológica não sustentada; RVS: resposta virológica sustentada. ^aAnemia - grupo coinfeção HIV/HCV e neutropenia - grupo monoinfeção pelo HCV; *Teste Qui-quadrado; **Teste exato de Fisher.

Gráfico 3 - Distribuição dos genótipos do HCV, de acordo com os tipos de resposta ao tratamento da hepatite C, no grupo coinfeção HIV/HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013. SR: sem resposta; RVNS: resposta virológica não sustentada; RVS: resposta virológica sustentada.

Gráfico 4 - Distribuição dos genótipos do HCV, de acordo com os tipos de resposta ao tratamento da hepatite C, no grupo monoinfecção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013. SR: sem resposta; RVNS: resposta virológica não sustentada; RVS: resposta virológica sustentada.

Durante o tratamento medicamentoso da hepatite C, os pacientes relataram muitas reações adversas, sendo necessária a sua interrupção em alguns casos. Um total de 63 diferentes sinais e/ou sintomas foram apresentados pelos pacientes dos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfecção pelo HCV e são detalhados na Tabela 25.

Tabela 25 - Distribuição dos sinais e sintomas das reações adversas relacionados ao tratamento da hepatite C, de acordo com os grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Sinais e sintomas	Coinfeção HIV/HCV (n=84) %	HCV (n=100) %	p-value*
Mialgia	53,57	54,00	1,0000
Febre	47,61	52,00	0,6572
Fraqueza/ astenia/ fadiga/ cansaço	45,23	39,00	0,4538
Cefaleia	41,66	48,00	0,4575
Hiporexia	36,90	19,00	0,0078
Anemia	35,71	15,00	0,0017
Mal estar	23,80	16,00	0,1967
Náusea	22,61	17,00	0,3568
Neutropenia	21,42	18,00	0,5806
Vômito	13,09	4,00	0,0308
Insônia	13,09	12,00	0,8271
Nervosismo	10,71	13,00	0,6569
Indisposição	9,52	9,00	1,0000
Perda de peso	9,52	6,00	0,4126
Diarreia	8,33	6,00	0,5751
Desânimo	8,33	9,00	1,0000
Dor em membros inferiores	8,33	9,00	1,0000
Prurido corporal	8,33	15,00	0,1799
Exantema/ ressecamento da pele	7,14	14,00	0,1591
Artralgia	7,14	8,00	1,0000
Calafrio	5,95	3,00	0,4722
Plaquetopenia	5,95	11,00	0,2966
Tontura	5,95	9,00	0,5794
Alopecia	4,76	9,00	0,3879
Sonolência	4,76	3,00	0,7040
Tremores	3,57	1,00	0,3328
Epigastralgia	3,57	4,00	1,0000

Continua

Sinais e sintomas	Coinfecção HIV/HCV (n=84) %	HCV (n=100) %	p-value*
Cólicas/ dores abdominais	3,57	3,00	1,0000
Choro fácil	3,57	2,00	0,6612
Colúria	2,38	0,00	0,2071
Lesão em cavidade oral (mucosite/ estomatite)	2,38	2,00	1,0000
Reações no local de aplicação	2,38	6,00	0,2934
Dor na nuca	1,19	0,00	0,4565
Pesadelos	1,19	1,00	1,0000
Letargia	1,19	0,00	0,4565
Agitação	1,19	1,00	1,0000
Ansiedade	1,19	4,00	0,3777
Agressividade	1,19	0,00	0,4565
Ideação suicida	1,19	1,00	1,0000
Diminuição da libido	1,19	1,00	1,0000
Diminuição da auto estima	1,19	1,00	0,4565
Dispneia	1,19	1,00	1,0000
Icterícia	1,19	0,00	0,4565
Tosse	1,19	0,00	0,4565
Dor torácica	1,19	0,00	0,4565
Câimbras	1,19	0,00	0,4565
Parestesia em membros inferiores	1,19	0,00	0,4565
Odinofagia	1,19	1,00	1,0000
Labilidade emocional	1,19	2,00	1,0000
Dispepsia	1,19	1,00	1,0000
Sensação de “peso nos olhos”	1,19	0,00	0,4565
Impotência sexual	0,00	5,00	0,0638
Alucinações	0,00	1,00	1,0000
Xerostomia	0,00	4,00	0,1266
Polidipsia	0,00	1,00	1,0000
Hipotensão postural	0,00	1,00	1,0000
Sudorese	0,00	3,00	0,2516

Continuação

Sinais e sintomas	Coinfecção HIV/HCV (n=84) %	HCV (n=100) %	p-value*
Apatia	0,00	2,00	0,5011
Disgeusia	0,00	1,00	1,0000
Fezes escurecidas	0,00	1,00	1,0000
Zumbido	0,00	1,00	1,0000
Constipação intestinal	0,00	1,00	1,0000
Hiperemia em olhos	0,00	1,00	1,0000

* Teste exato de Fisher. Conclusão.

Alterações hematológicas foram comuns durante o tratamento da hepatite C. Elas exigiram a introdução de medidas terapêuticas para que os pacientes conseguissem finalizar o esquema terapêutico proposto sem que fosse necessária a sua interrupção. Para o controle da anemia e neutropenia foram utilizadas as prescrições dos medicamentos filgrastima e eritropoetina, além da transfusão de sangue. A distribuição do número de pacientes pelo tipo de medida terapêutica prescrita é mostrada no Gráfico 5.

Gráfico 5 - Medidas terapêuticas instituídas para minimizar as alterações hematológicas durante o tratamento da hepatite C entre os pacientes dos grupos coinfecção HIV/HCV e monoinfecção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013.

A ingestão alcoólica diária foi avaliada em 49 pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV. Nesse grupo, cinco pacientes afirmaram não ingerir nenhum tipo de bebida alcoólica. Dos que faziam a ingestão, nove eram mulheres e 35 homens. Dentre o sexo feminino, a ingestão alcoólica foi < 20 g/dia em três casos (variação de 6,85 a 10,28 g/dia) e > 20 g/dia em seis casos (variação de 27,42 a 320 g/dia). No sexo masculino, a ingestão alcoólica diária foi < 40 g/dia em 11 casos (variação de 10,28 a 32 g/dia) e > 40 g/dia em 24 casos (variação de 48 a 480 g/dia).

No grupo monoinfeção pelo HCV, foram avaliados 64 pacientes, dos quais sete afirmaram não realizar ingestão alcoólica. Dentre os que ingeriam, dois eram do sexo feminino e 55 do sexo masculino. No sexo feminino, os dois casos eram de ingestão alcoólica não abusiva, ou seja, < 20g/dia (consumos de 0,46 e 4,2 g/dia). No sexo masculino, a ingestão alcoólica diária foi < 40 g/dia em 23 casos (variação de 0,26 a 34,28 g/dia) e > 40 g/dia em 32 casos (variação de 41,14 a 1600 g/dia). A ingestão alcoólica entre os grupos é exposta na Tabela 26.

Tabela 26 - Descrição da ingestão alcoólica entre os pacientes dos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Ingestão alcoólica	Coinfeção HIV/HCV (n=49) %	HCV (n=64) %
Não ingerem álcool	10,20	10,93
Mulheres < 20g/dia	6,12	3,12
Mulheres > 20g/dia	12,24	0,00
Homens < 40 g/dia	22,44	35,93
Homens > 40 g/dia	48,97	50,00

5.2 Polimorfismos das citocinas

As distribuições alélicas e genotípicas dos SNPs -308 e -238 do TNF- α , +874 do IFN- γ e -607 e -137 da IL-18 dos quatro grupos estudados estão expostas na Tabela 27.

Tabela 27 - Distribuição das frequências alélicas e genotípicas dos SNPs -308 e -238 do TNF- α , +874 do IFN- γ e -607 e -137 da IL-18, de acordo com os grupos estudados. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Grupos	TNF- α -238		TNF- α -308	IL-18 -607	IL-18 -137	IFN- γ +874
	Alelo 1	A	A	A	G	A
	Alelo 2	G	G	C	C	T
Coinfecção HIV/HCV	1/1	0,0000	0,0337	0,1176	0,5400	0,4500
	1/2	0,1010	0,2360	0,4000	0,3700	0,3500
	2/2	0,8990	0,7303	0,4824	0,0900	0,2000
	<i>n</i>	99	89	85	100	100
	1	0,0505	0,1517	0,3176	0,7250	0,6250
	2	0,9495	0,8483	0,6824	0,2750	0,3750
	2 <i>n</i>	198	178	170	200	200
	<i>pEHW</i>	1,0000	0,4097	0,4611	0,4581	0,0112
	<i>Ho</i>	0,1010	0,2359	0,4000	0,3700	0,3500
	<i>Hs</i>	0,0964	0,2588	0,4360	0,4007	0,4711
HCV	1/1	0,0000	0,0800	0,1000	0,4900	0,2700
	1/2	0,2100	0,3100	0,5500	0,4100	0,5200
	2/2	0,7900	0,6100	0,3500	0,1000	0,2100
	<i>n</i>	100	100	100	100	100
	1	0,1050	0,2350	0,3750	0,6950	0,5300
	2	0,8950	0,7650	0,6250	0,3050	0,4700
	2 <i>n</i>	200	200	200	200	200
	<i>pEHW</i>	0,5936	0,1673	0,1340	0,8131	0,8406
	<i>Ho</i>	0,2100	0,3100	0,5500	0,4100	0,5200
	<i>Hs</i>	0,1888	0,3613	0,4711	0,4260	0,5007
HIV	1/1	0,0000	0,0600	0,1700	0,4900	0,3300
	1/2	0,1200	0,1400	0,4500	0,4400	0,5300
	2/2	0,8800	0,8000	0,3800	0,0700	0,1400
	<i>n</i>	100	100	100	100	100
	1	0,0600	0,1300	0,3950	0,7100	0,5950
	2	0,9400	0,8700	0,6050	0,2900	0,4050
	2 <i>n</i>	200	200	200	200	200
	<i>pEHW</i>	1,0000	0,0012	0,5369	0,6302	0,4074
	<i>Ho</i>	0,1200	0,1400	0,4500	0,4400	0,5300
	<i>Hs</i>	0,1133	0,2273	0,4803	0,4138	0,4843
Controles saudáveis	1/1	0,0000	0,0200	0,1200	0,5300	0,4500
	1/2	0,1600	0,0900	0,3700	0,3500	0,4000
	2/2	0,8400	0,8900	0,5100	0,1200	0,1500
	<i>n</i>	100	100	100	100	100
	1	0,0800	0,0650	0,3050	0,7050	0,6500
	2	0,9200	0,9350	0,6950	0,2950	0,3500
	2 <i>n</i>	200	200	200	200	200
	<i>pEHW</i>	1,0000	0,0488	0,2354	0,1466	0,2720
	<i>Ho</i>	0,1600	0,0900	0,3700	0,3500	0,4000
	<i>Hs</i>	0,1479	0,1221	0,4260	0,4180	0,4572

pEHW: probabilidade de aderência ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg; *Ho*: Heterozigose observada; *Hs*: Heterozigose esperada.

As associações entre os alelos e genótipos dos SNPs -308 e -238 do TNF- α , +874 do IFN- γ e -607 e -137 da IL-18 foram avaliadas nos quatro grupos e os valores significativos são mostrados na Tabela 28. Não foram encontradas associações estatisticamente significantes com o SNP -137 da IL-18.

Tabela 28 - Distribuição das associações significativas dos alelos e genótipos dos SNPs -308 e -238 do TNF- α , +874 do IFN- γ e -607 da IL-18 entre os grupos estudados. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Alelos e genótipos		Grupos avaliados	p-value*	Odds Ratio (95% IC)
TNF- α -238	G/A	Coinfecção x HCV	0,0494	0,4227 (0,1877 - 0,9518)
	G/G		0,0494	2,3658 (1,0507 - 5,3272)
TNF- α -308	G/A	Coinfecção x Controles saudáveis	0,0088	3,1225 (1,3457 - 7,2453)
	G/G		0,0080	0,3347 (0,1531 - 0,7317)
	A		0,0072	2,5721 (1,2830 - 5,1564)
	G		0,0072	0,3888 (0,1939 - 0,7794)
TNF- α -308	G/A	HCV x HIV	0,0063	2,7598 (1,3621 - 5,5919)
	G/G		0,0050	0,3910 (0,2075 - 0,7369)
	A		0,0093	2,0558 (1,2149 - 3,4787)
	G		0,0093	0,4864 (0,2875 - 0,8231)
TNF- α -308	G/A	HCV x Controles saudáveis	0,0002	4,5427 (2,0302 - 10,1644)
	G/G		0,0000	0,1933 (0,0918 - 0,4069)
	A		0,0000	4,4188 (2,3061 - 8,4669)
	G		0,0000	0,2263 (0,1181 - 0,4336)
TNF- α -308	A	HIV x Controles saudáveis	0,0420	2,1494 (1,0705 - 4,3156)
	G		0,0420	0,4652 (0,2317 - 0,9341)
IL-18 -607	C/A	HCV x Controles saudáveis	0,0157	2,0811 (1,1820 - 3,6641)
	C/C		0,0319	0,5173 (0,2932 - 0,9129)
IFN- γ +874	A/A	Coinfecção x HCV	0,0120	2,2121 (1,2242 - 3,9974)
	T/A		0,0222	0,4970 (0,2816 - 0,8773)
IFN- γ +874	T/A	Coinfecção x HIV	0,0152	0,4775 (0,2705 - 0,8430)
IFN- γ +874	A/A	HCV x Controles saudáveis	0,0120	0,4521 (0,2502 - 0,8169)
	A		0,0192	0,6072 (0,4062 - 0,9076)
	T		0,0192	1,6469 (1,1018 - 2,4616)

* Teste exato de Fisher.

A inferência de haplótipos foi possível para o polimorfismo da IL-18 e do TNF- α . As distribuições das frequências haplotípicas da IL-18 e do TNF- α estão expostas nas Tabelas 29 e 30, respectivamente.

Tabela 29 - Distribuição das frequências haplotípicas da IL-18, de acordo com os grupos estudados. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Grupos	Haplótipos	Frequência
Coinfecção HIV/HCV	IL-18 -607A/-137G	0,1338
	IL-18 -607A/-137C	0,1982
	IL-18 -607C/-137G	0,5912
	IL-18 -607C/-137C	0,0768
	<i>2n</i>	200
HCV	IL-18 -607A/-137G	0,1489
	IL-18 -607A/-137C	0,2261
	IL-18 -607C/-137G	0,5461
	IL-18 -607C/-137C	0,0789
	<i>2n</i>	200
HIV	IL-18 -607A/-137G	0,1670
	IL-18 -607A/-137C	0,2280
	IL-18 -607C/-137G	0,5430
	IL-18 -607C/-137C	0,0620
	<i>2n</i>	200
Controles saudáveis	IL-18 -607A/-137G	0,1427
	IL-18 -607A/-137C	0,1623
	IL-18 -607C/-137G	0,5623
	IL-18 -607C/-137C	0,1327
	<i>2n</i>	200

Tabela 30 - Distribuição das frequências haplotípicas do TNF- α , de acordo com os grupos estudados. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Grupos	Haplótipos	Frequência
Coinfecção HIV/HCV	TNF- α -238A/-308A	0,0011
	TNF- α -238A/-308G	0,0493
	TNF- α -238G/-308A	0,1502
	TNF- α -238G/-308G	0,7994
	<i>2n</i>	200
HCV	TNF- α -238A/-308A	0,0310
	TNF- α -238A/-308G	0,0740
	TNF- α -238G/-308A	0,2040
	TNF- α -238G/-308G	0,6910
	<i>2n</i>	200
HIV	TNF- α -238A/-308A	0,0050
	TNF- α -238A/-308G	0,0550
	TNF- α -238G/-308A	0,1250
	TNF- α -238G/-308G	0,8150
	<i>2n</i>	200
Controles saudáveis	TNF- α -238A/-308A	0,0000
	TNF- α -238A/-308G	0,0800
	TNF- α -238G/-308A	0,0650
	TNF- α -238G/-308G	0,8550
	<i>2n</i>	200

As associações entre os haplótipos dos SNPs -308 e -238 do TNF- α e -607 e -137 da IL-18 foram avaliadas nos quatro grupos estudados. Os valores estatisticamente significantes são mostrados na Tabela 31.

Tabela 31 - Distribuição das associações significativas dos haplótipos dos SNPs - 308 e -238 do TNF- α e -607 e -137 da IL-18 entre os grupos estudados. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Haplótipos	Grupos avaliados	p-value*	Odds Ratio (95% IC)
TNF- α -238A/-308A	Coinfecção x HCV	0,0301	0,0746 (0,0042 - 1,3336)
TNF- α -238G/-308G		0,0158	1,7971 (1,1367 - 2,8413)
TNF- α -238G/-308 ^a	Coinfecção x Controles saudáveis	0,0091	2,5385 (1,2820 - 5,0264)
TNF- α -238G/-308A	HCV x HIV	0,0427	1,8050 (1,0501 - 3,1028)
TNF- α -238G/-308G		0,0053	0,5052 (0,3170 - 0,8052)
TNF- α -238A/-308A	HCV x Controles saudáveis	0,0301	13,4010 (0,7499 - 239,4939)
TNF- α -238G/-308A		0,0001	3,7092 (1,9196 - 7,1673)
TNF- α -238G/-308G		0,0001	0,3775 (0,2302 - 0,6191)
IL-18 -607C/-137C	HIV x Controles saudáveis	0,0173	0,4090 (0,2009 - 0,8324)

* Teste exato de Fisher.

As frequências alélicas e genóticas dos SNPs -308 e -238 do TNF- α , +874 do IFN- γ e -607 e -137 da IL-18 foram avaliadas de acordo com o grau de atividade necroinflamatória hepática pela classificação METAVIR. A Tabela 32 revela essas frequências nos grupos coinfecção HIV/HCV e monoinfecção pelo HCV.

Tabela 32 - Distribuição das frequências alélicas e genótípicas dos SNPs -308 e -238 do TNF- α , +874 do IFN- γ e -607 e -137 da IL-18, de acordo com o grau de atividade necroinflamatória pela classificação METAVIR nos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Grupos			TNF- α -238	TNF- α -308	IL-18 -607	IL-18 -137	IFN- γ +874
	Alelo 1		A	A	A	G	A
	Alelo 2		G	G	C	C	T
Coinfeção HIV/HCV A0A1	1/1		0,0000	0,0323	0,1000	0,4167	0,5000
	1/2		0,1429	0,1935	0,4333	0,5000	0,3056
	2/2		0,8571	0,7742	0,4667	0,0833	0,1944
	<i>n</i>		35	31	30	36	36
	1		0,0714	0,1290	0,3167	0,6667	0,6528
	2		0,9286	0,8710	0,6833	0,3333	0,3472
	2 <i>n</i>		70	62	60	72	72
Coinfeção HIV/HCV A2A3	1/1		0,0000	0,0408	0,1277	0,6481	0,4259
	1/2		0,0741	0,2449	0,3404	0,2593	0,3889
	2/2		0,9259	0,7143	0,5319	0,0926	0,1852
	<i>n</i>		54	49	47	54	54
	1		0,0370	0,1633	0,2979	0,7778	0,6204
	2		0,9630	0,8367	0,7021	0,2222	0,3796
	2 <i>n</i>		108	98	94	108	108
HCV A0A1	1/1		0,0000	0,1111	0,1667	0,3889	0,2222
	1/2		0,1667	0,3333	0,5556	0,5000	0,6111
	2/2		0,8333	0,5556	0,2778	0,1111	0,1667
	<i>n</i>		18	18	18	18	18
	1		0,0833	0,2778	0,4444	0,6389	0,5278
	2		0,9167	0,7222	0,5556	0,3611	0,4722
	2 <i>n</i>		36	36	36	36	36
HCV A2A3	1/1		0,0000	0,0536	0,0714	0,5179	0,2500
	1/2		0,1786	0,3393	0,5179	0,3929	0,5536
	2/2		0,8214	0,6071	0,4107	0,0893	0,1964
	<i>n</i>		56	56	56	56	56
	1		0,0893	0,2232	0,3304	0,7143	0,5268
	2		0,9107	0,7768	0,6696	0,2857	0,4732
	2 <i>n</i>		112	112	112	112	112

As associações dos alelos e genótipos dos SNPs -308 e -238 do TNF- α , +874 do IFN- γ e -607 e -137 da IL-18 com os graus de atividade necroinflamatória A0A1 e

A2A3 foram avaliadas nos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV. As frequências alélicas e genóticas de cada SNP dos pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV classificados com atividade necroinflamatória A0A1 foram comparadas com as frequências dos pacientes do grupo monoinfeção pelo HCV também classificados com atividade necroinflamatória A0A1. Subsequentemente, a mesma avaliação foi feita com os pacientes de ambos os grupos, classificados com atividade necroinflamatória A2A3. Dentre essas análises, a única identificada como estatisticamente significativa se deu com o genótipo +874 T/A do IFN- γ , na avaliação da atividade necroinflamatória A0A1 – o genótipo +874 T/A foi mais frequente no grupo monoinfeção pelo HCV que no coinfeção HIV/HCV ($p=0,0423$; OR=0,2800; IC95%=0,0857 a 0,9145). Outra análise foi realizada comparando as frequências alélicas e genóticas dos pacientes com diferentes graus de atividade necroinflamatória hepática dentro do mesmo grupo. Não foi encontrada associação significativa entre os pacientes pertencentes ao grupo monoinfeção pelo HCV, e dentre os pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV, a frequência do genótipo da IL-18 -137 G/C entre os pacientes portadores de atividade necroinflamatória A0A1 foi superior à dos portadores de A2A3 ($p=0,0253$; OR=0,3500; IC95%=0,1433 a 0,8548).

As frequências alélicas e genóticas dos SNPs em estudo também foram avaliadas de acordo com o grau de fibrose hepática pela classificação METAVIR nos pacientes pertencentes aos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV, conforme mostra a Tabela 33. Os resultados estatisticamente significantes das associações das frequências com a classificação da fibrose entre ambos os grupos encontram-se na Tabela 34. Nenhuma associação estatisticamente significativa foi identificada entre os SNPs -308 do TNF- α e -607 e -137 da IL-18.

Tabela 33 - Distribuição das frequências alélicas e genotípicas dos SNPs -308 e -238 do TNF- α , +874 do IFN- γ e -607 e -137 da IL-18, de acordo com o grau de fibrose hepática pela classificação METAVIR nos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Grupos			TNF- α -238	TNF- α -308	IL-18 -607	IL-18 -137	IFN- γ +874
	Alelo 1		A	A	A	G	A
	Alelo 2		G	G	C	C	T
Coinfeção HIV/HCV F0-F2	1/1		0,0000	0,0290	0,1045	0,5316	0,4557
	1/2		0,1139	0,2029	0,4030	0,3797	0,3924
	2/2		0,8861	0,7681	0,4925	0,0886	0,1519
	<i>n</i>		79	69	67	79	79
	A		0,0570	0,1304	0,3060	0,7215	0,6519
	B		0,9430	0,8696	0,6940	0,2785	0,3481
	2 <i>n</i>		158	138	134	158	158
Coinfeção HIV/HCV F3F4	1/1		0,0000	0,0500	0,1667	0,5714	0,4286
	1/2		0,0500	0,3500	0,3889	0,3333	0,1905
	2/2		0,9500	0,6000	0,4444	0,0952	0,3810
	<i>n</i>		20	20	18	21	21
	1		0,0250	0,2250	0,3611	0,7381	0,5238
	2		0,9750	0,7750	0,6389	0,2619	0,4762
	2 <i>n</i>		40	40	36	42	42
HCV F0-F2	1/1		0,0000	0,0714	0,1071	0,4464	0,2321
	1/2		0,1607	0,3036	0,5357	0,4286	0,6250
	2/2		0,8393	0,6250	0,3571	0,1250	0,1429
	<i>n</i>		56	56	56	56	56
	1		0,0804	0,2232	0,3750	0,6607	0,5446
	2		0,9196	0,7768	0,6250	0,3393	0,4554
	2 <i>n</i>		112	112	112	112	112
HCV F3F4	1/1		0,0000	0,0909	0,0909	0,5455	0,3182
	1/2		0,2727	0,3182	0,5682	0,3864	0,3864
	2/2		0,7273	0,5909	0,3409	0,0682	0,2955
	<i>n</i>		44	44	44	44	44
	1		0,1364	0,2500	0,3750	0,7386	0,5114
	2		0,8636	0,7500	0,6250	0,2614	0,4886
	2 <i>n</i>		88	88	88	88	88

Tabela 34 - Distribuição das associações significativas entre os genótipos dos SNPs -238 do TNF- α e +874 do IFN- γ e as diferentes classificações de fibrose hepática nos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Fibrose	Genótipos		HIV/HCV	HCV	<i>p</i> -value*	<i>Odds Ratio</i> (95% IC)
			(Frequências)			
Fibrose F3F4	TNF- α	G/A	0,0500	0,2727	0,0484	0,1404 (0,0169 - 1,1664)
	-238	G/G	0,9500	0,7273	0,0484	7,1250 (0,8574 - 59,2112)
Fibrose F0-F2	IFN- γ	A/A	0,4557	0,2321	0,0107	2,7692 (1,2923 - 5,9341)
	+874	T/A	0,3924	0,6250	0,0091	0,3875 (0,1915 - 0,7840)

* Teste exato de Fisher.

A associação entre as frequências alélicas e genotípicas e os diferentes graus de fibrose hepática também foi avaliada entre os pacientes do mesmo grupo.

Nenhuma associação estatisticamente significativa foi identificada entre os SNPs -308 e -238 do TNF- α e -607 e -137 da IL-18. Os resultados estatisticamente significantes envolvendo o SNP +874 do IFN- γ podem ser vistos na Tabela 35.

Tabela 35 - Distribuição das associações significativas entre os genótipos do IFN- γ +874 e as diferentes classificações de fibrose hepática, de acordo com os grupos de pacientes. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Grupo	Genótipos	Fibrose		<i>p</i> -value*	<i>Odds Ratio</i> (95% IC)
		F0-F2	F3F4		
		(Frequências)			
Coinfecção HIV/HCV	IFN- γ +874 T/T	0,1519	0,3810	0,0304	3,4359 (1,1740 - 10,0555)
Grupo HCV	IFN- γ +874 T/A	0,6250	0,3864	0,0262	0,3778 (0,1676 - 0,8517)

* Teste exato de Fisher.

Por fim, as frequências alélicas e genotípicas dos SNPs -308 e -238 do TNF- α , +874 do IFN- γ e -607 e -137 da IL-18 foram avaliadas de acordo com o tipo de resposta ao tratamento da hepatite C. A Tabela 36 revela essas frequências no grupo coinfeção HIV/HCV e a Tabela 37, no grupo monoinfeção pelo HCV.

Tabela 36 - Distribuição das frequências alélicas e genotípicas dos SNPs -308 e -238 do TNF- α , +874 do IFN- γ e -607 e -137 da IL-18, de acordo com o tipo de resposta ao tratamento da hepatite C no grupo coinfeção HIV/HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Coinfeção HIV/HCV	TNF- α -238		TNF- α -308	IL-18 -607	IL-18 -137	IFN- γ +874
	Alelo 1	A	A	A	G	A
	Alelo 2	G	G	C	C	T
Sem resposta	1/1	0,0000	0,0556	0,1471	0,5946	0,5135
	1/2	0,0811	0,2500	0,4412	0,3514	0,2703
	2/2	0,9189	0,6944	0,4118	0,0541	0,2162
	n	37	36	34	37	37
	1	0,0405	0,1806	0,3676	0,7703	0,6486
	2	0,9595	0,8194	0,6324	0,2297	0,3514
	2n	74	72	68	74	74
Resposta viroológica não sustentada	1/1	0,0000	0,0000	0,1111	0,6000	0,2000
	1/2	0,1000	0,1111	0,3333	0,3000	0,6000
	2/2	0,9000	0,8889	0,5556	0,1000	0,2000
	n	10	9	9	10	10
	1	0,0500	0,0556	0,2778	0,7500	0,5000
	2	0,9500	0,9444	0,7222	0,2500	0,5000
	2n	20	18	18	20	20
Resposta viroológica sustentada	1/1	0,0000	0,0588	0,1111	0,5714	0,4286
	1/2	0,1429	0,2941	0,3333	0,2857	0,4762
	2/2	0,8571	0,6471	0,5556	0,1429	0,0952
	n	21	17	18	21	21
	1	0,0714	0,2059	0,2778	0,7143	0,6667
	2	0,9286	0,7941	0,7222	0,2857	0,3333
	2n	42	34	36	42	42

Tabela 37 - Distribuição das frequências alélicas e genotípicas dos SNPs -308 e -238 do TNF- α , +874 do IFN- γ e -607 e -137 da IL-18, de acordo com o tipo de resposta ao tratamento da hepatite C no grupo monoinfecção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Grupo HCV	TNF- α -238		TNF- α -308	IL-18 -607	IL-18 -137	IFN- γ +874
	Alelo 1	A	A	A	G	A
	Alelo 2	G	G	C	C	T
Sem resposta	1/1	0,0000	0,0588	0,2353	0,3529	0,1765
	1/2	0,3529	0,4118	0,4118	0,5882	0,5882
	2/2	0,6471	0,5294	0,3529	0,0588	0,2353
	<i>n</i>	17	17	17	17	17
	1	0,1765	0,2647	0,4412	0,6471	0,4706
	2	0,8235	0,7353	0,5588	0,3529	0,5294
	2 <i>n</i>	34	34	34	34	34
Resposta virológica não sustentada	1/1	0,0000	0,0667	0,0667	0,4667	0,2667
	1/2	0,4000	0,4000	0,6000	0,4667	0,5333
	2/2	0,6000	0,5333	0,3333	0,0667	0,2000
	<i>n</i>	15	15	15	15	15
	1	0,2000	0,2667	0,3667	0,7000	0,5333
	2	0,8000	0,7333	0,6333	0,3000	0,4667
	2 <i>n</i>	30	30	30	30	30
Resposta virológica sustentada	1/1	0,0000	0,0896	0,0746	0,5224	0,2985
	1/2	0,1343	0,2687	0,5672	0,3582	0,5075
	2/2	0,8657	0,6418	0,3582	0,1194	0,1940
	<i>n</i>	67	67	67	67	67
	1	0,0672	0,2239	0,3582	0,7015	0,5522
	2	0,9328	0,7761	0,6418	0,2985	0,4478
	2 <i>n</i>	134	134	134	134	134

De acordo com os resultados da caracterização clínica e das frequências alélicas e genotípicas dos SNPs avaliados conforme os tipos de resposta ao tratamento da hepatite C, foi possível identificar diferenças importantes entre os pacientes dos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfecção pelo HCV. Essas diferenças, principalmente relacionadas aos tipos de esquemas terapêuticos, genótipos do HCV, gravidade da doença hepática e reduzido número amostral, levaram à opção de avaliar a associação entre as frequências alélicas e genotípicas e os diferentes tipos de resposta ao tratamento da hepatite C entre os pacientes pertencentes a um mesmo grupo. Associações significativas não foram encontradas

entre as frequências dos pacientes pertencentes ao grupo coinfeção HIV/HCV, nos três tipos de resposta ao tratamento estudados. No grupo monoinfecção pelo HCV, foram identificados resultados estatisticamente significantes envolvendo os alelos e genótipos do SNP -238 do TNF- α e os tipos de respostas – RVS e RVNS, como exposto na Tabela 38.

Tabela 38 - Distribuição das associações significativas entre os alelos e genótipos do SNP -238 do TNF- α e a classificação do tipo de resposta ao tratamento da hepatite C no grupo monoinfecção pelo HCV. Ribeirão Preto, 2012 a 2013

Grupo	Alelos e genótipos	RVS	RVNS	p-value*	Odds Ratio (95% IC)	
		(Frequências)				
HCV	TNF- α -238	G/A	0,1343	0,4000	0,0263	0,2328 (0,0667 - 0,8116)
		G/G	0,8657	0,6000	0,0263	4,2963 (1,2321 - 14,9813)
		A	0,0672	0,2000	0,0340	0,2880 (0,0938 - 0,8840)
		G	0,9328	0,8000	0,0340	3,4722 (1,1312 - 10,6583)

*Teste exato de Fisher; RVS: resposta virológica sustentada; RVNS: resposta virológica não sustentada.

Discussão

6 DISCUSSÃO

A infecção pelo HCV em pessoas vivendo com HIV apresenta um curso mais rápido e severo da doença hepática, sendo uma das principais causas de mortalidade nesses indivíduos (D:A:D STUDY GROUP et al., 2010a). Diante disso, procurou-se descrever nesse estudo as características sociodemográficas, clínicas, laboratoriais, histológicas e genéticas de indivíduos portadores das coinfeção HIV/HCV, da monoinfecção pelo HIV e pelo HCV e de indivíduos saudáveis para tentar compreender a evolução agressiva da doença em pacientes coinfectados.

A média de idade identificada nos indivíduos portadores da coinfeção HIV/HCV foi de aproximadamente 45 anos, sendo mais jovem que os pacientes do grupo monoinfecção pelo HIV, com média de aproximadamente 47 anos e do grupo monoinfecção pelo HCV, com média de 50,37 anos. Esses dados se assemelham à média de idade apresentada em outros estudos que compararam pacientes monoinfectados pelo HCV e coinfectados pelos HIV/HCV e revelaram os pacientes coinfectados como mais jovens (BRASIL, 2012; DE LEDINGHEN et al., 2008; SAGNELLI et al., 2013; TOVO et al., 2013). A predominância dos indivíduos do sexo masculino nos grupos monoinfecção pelo HIV e pelo HCV e da coinfeção HIV/HCV também condiz com estudos e levantamentos que indicam o destaque das infecções em homens, apesar da diminuição da razão entre os sexos com relação à contaminação pelo HIV (BLACKARD et al., 2006; BRASIL, 2012, 2014; FEUTH et al., 2013). O sexo masculino é um dos fatores associados com a fibrose hepática avançada na hepatite C crônica (MCCAUGHAN; GEORGE, 2004).

Com relação à cor da pele dos pacientes, houve maior porcentagem de indivíduos classificados como brancos em todos os grupos. De acordo com o último Boletim Epidemiológico de HIV/aids divulgado no país, há concentração de casos de aids em pessoas autodeclaradas como brancas (BRASIL, 2013f), e também predomínio da cor branca entre os casos notificados de HCV no ano de 2010, conforme o Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais de 2012 (BRASIL, 2012). Entretanto, esse dado não pôde ser confirmado visualmente, uma vez que a fonte de obtenção dessa variável foi o prontuário médico.

Na avaliação dos possíveis modos de aquisição da infecção pelo HIV, houve destaque da via sexual no grupo monoinfecção pelo HIV, com 92,94% dos casos e

no grupo coinfeção HIV/HCV, com 63,63%. Dos casos notificados em 2012 em homens maiores de 13 anos no Brasil, 94,1% foram relacionados à categoria de exposição sexual; nas mulheres, essa categoria esteve presente em 96,6% das notificações (BRASIL, 2013f). No grupo coinfeção HIV/HCV, a categoria de uso de drogas injetáveis com 47,72% e o uso de drogas inalatórias com 15,90% dos casos apresentou importância, reafirmando essa prática como um grande risco para a aquisição da infecção, como descrito anteriormente em outros estudos (SAGNELLI et al., 2013; TOVO et al., 2006; ZOCCRATTO et al., 2006). Adicionalmente, 36,36% dos pacientes coinfectados contra 3,52% dos monoinfectados pelo HIV apresentaram exposição a mais de um fator de risco, o que também pode favorecer a aquisição de outras doenças com transmissão semelhante nessa população. Em ambos os grupos, a maior parte dos pacientes descobriu a infecção pelo HIV devido à presença de sintomas de doenças oportunistas.

O IMC foi avaliado nos pacientes pertencentes aos grupos coinfeção HIV/HCV, monoinfeção pelo HIV e monoinfeção pelo HCV, e o menor valor médio, considerado estatisticamente significativo, foi identificado nos indivíduos coinfectados ($23,86 \text{ kg/m}^2$). Outros estudos identificaram menor valor de IMC entre os pacientes coinfectados em relação aos monoinfectados pelo HCV (DE LEDINGHEN et al., 2008; HALFON et al., 2009; SILVER et al., 2013). Apesar dos pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV apresentarem IMC dentro dos limites de normalidade, há relato de que o aumento do IMC foi identificado como preditor de esteatose hepática em indivíduos coinfectados pelos HIV/HCV e a esteatose, por sua vez, associada com a gravidade da fibrose (MCGOVERN et al., 2006; STERLING et al., 2008). No entanto, estudos mais recentes não compartilham dessa associação e descartam a relação entre a esteatose hepática e a fibrose avançada (LI VECCHI et al., 2012, 2013).

A TARV esteve presente em 100% dos pacientes do grupo monoinfeção pelo HIV e em 98% dos pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV. A diferença entre o tempo do diagnóstico da infecção pelo HIV e o tempo de início de tratamento com ARV no grupo coinfeção HIV/HCV foi de aproximadamente três anos e no grupo monoinfeção pelo HIV, de aproximadamente um ano. Estudo anterior apresentou que o tratamento com ARV foi associado com progressão mais lenta da fibrose hepática em pacientes coinfectados devido ao controle da infecção pelo HIV, e por essa razão, seu início precoce deve ser considerado nesses pacientes (MACIAS et

al., 2009). A atual recomendação de início da TARV no Brasil é que aconteça a partir do diagnóstico, independentemente da contagem de linfócitos T CD4⁺ (BRASIL, 2013b). Essa conduta poderá contribuir para o melhor manejo da infecção pelo HCV em indivíduos coinfectados.

Das comorbidades e doenças oportunistas presentes nos grupos coinfecção HIV/HCV e monoinfecção pelo HIV e HCV, destacaram-se a hipertensão arterial e o diabetes mellitus, patologias líderes de prevalência no Brasil e no mundo, identificadas nos três grupos de pacientes. A hipertensão arterial esteve presente em 9,0% dos pacientes do grupo coinfecção HIV/HCV, em 19% dos pacientes do grupo monoinfecção pelo HIV e em 20% dos pacientes do grupo monoinfecção pelo HCV. No caso do diabetes mellitus, a distribuição na mesma ordem dos grupos foi de 8,0%, 10% e 11%. Um trabalho que envolveu 19.424 pacientes portadores do HIV, dos quais 6136 apresentavam a coinfecção pelo HCV, avaliou a associação da coinfecção pelo HCV e o risco de doenças cardiovasculares nesses indivíduos. Os pacientes coinfectados foram significativamente mais propensos que os monoinfectados a terem o diagnóstico de hipertensão arterial ou diabetes mellitus tipo 2, além de apresentarem maior taxa de infarto agudo do miocárdio e de doenças cerebrovasculares (BEDIMO et al., 2010). Outro trabalho com similar magnitude de amostra também identificou maior frequência de hipertensão arterial e diabetes entre os pacientes coinfectados (GOULET et al., 2005). Entretanto, um estudo multicêntrico maior não identificou associação entre a coinfecção pelo HCV e o desenvolvimento de infarto do miocárdio em indivíduos portadores do HIV (D:A:D STUDY GROUP et al., 2010b). A amostra reduzida do presente trabalho frente a esses estudos não permitiu a identificação de associações com significância estatística.

Dentre os grupos coinfecção HIV/HCV e monoinfecção pelo HIV, a neurotoxoplasmose, a tuberculose nas suas várias formas e a lipodistrofia, se sobressaíram sobre as demais doenças oportunistas e comorbidades. Um estudo realizado com mais de cinco mil pacientes italianos avaliou o risco de condições definidoras de aids em relação à presença de infecção crônica pelo HCV ou cirrose relacionada ao HCV em pacientes portadores do HIV. Concluiu-se que a coinfecção pelo HCV foi associada ao aumento de duas vezes no risco de desenvolvimento de aids e que as infecções bacterianas e fúngicas, além das doenças relacionadas ao HIV, são as doenças definidoras de aids mais fortemente associadas com a

sorologia positiva para o HCV e também com a cirrose relacionada ao HCV (D'ARMINIO MONFORTE et al., 2009). A lipodistrofia também já foi associada à infecção pela hepatite C (RODRIGUEZ-GUARDADO et al., 2003) e à fibrose hepática avançada em pacientes coinfetados (LOKO et al., 2011).

Os resultados dos exames laboratoriais foram comparados entre os pacientes pertencentes aos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HIV e HCV. Os valores de glicemia, INR, alfafetoproteína e TSH não apresentaram alterações significativas entre os grupos. Os valores médios de colesterol total e triglicérides foram mais elevados no grupo monoinfeção pelo HIV que nos demais. A propensão ao desenvolvimento da lipodistrofia nesses pacientes pode ser uma possível explicação para este fato, com base no maior tempo de exposição desse grupo aos ARV em relação ao coinfeção HIV/HCV, uma vez que há associação entre a duração da TARV e a lipodistrofia (GELENSKE et al., 2010). Com relação aos marcadores séricos de fibrose hepática, os valores de GGT apresentaram-se acima dos limites de normalidade nos três grupos, com maior média no grupo coinfeção HIV/HCV. Os valores de ALT e AST encontraram-se acima do limítrofe nos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV, com maior média no primeiro. Outros estudos avaliaram os resultados desses exames em pacientes monoinfectados pelo HCV e em coinfetados, e identificaram que os valores de GGT, ALT e AST também apresentavam-se mais elevados nos coinfetados (CAPA et al., 2007; DE LEDINGHEN et al., 2008). A associação das elevações persistentes nos níveis séricos das enzimas hepáticas em pacientes coinfetados com a progressão da fibrose é conhecida (KONERMAN et al., 2014). Em adição, o risco de toxicidade hepática é alto em pacientes portadores do HIV devido a vários fatores, merecendo destaque a utilização ampla de medicamentos, incluindo os que compõem a TARV (BRASIL, 2013b). Com o intuito de tentar minimizar esses danos, estudos estão sendo realizados para garantir esquemas de TARV mais seguros para os pacientes coinfetados (MACIAS et al., 2012; NEUKAM et al., 2011). Também recomenda-se que a medição dessas enzimas seja realizada, pois essa simples ação pode ser útil na identificação de pacientes com maior risco de progressão da hepatite C e, assim, garantir uma monitorização mais próxima (KONERMAN et al., 2014).

Na avaliação dos valores médios de albumina, bilirrubinas e plaquetas constatou-se que apresentaram variação significativa entre os grupos, entretanto, estavam dentro dos parâmetros de referência.

A ingestão alcoólica também foi avaliada nos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV. Em ambos, pode-se observar predomínio do consumo em homens: o consumo considerado não abusivo ($< 40\text{g}/\text{dia}$) foi maior no grupo monoinfeção pelo HCV, enquanto que o consumo abusivo ($> 40\text{g}/\text{dia}$) foi similar entre os dois, com aproximadamente 50% do pacientes de cada grupo pertencentes à essa categoria. O consumo crônico de álcool é associado com a progressão acelerada da fibrose, com maior frequência de cirrose e maior incidência de CHC, podendo comprometer o tratamento antiviral da hepatite C (SAFDAR; SCHIFF, 2004). Devido à sua influência na evolução da hepatite C (FOCACCIA; GALANTE; OLIVEIRA, 2009a), os pacientes precisam ser orientados sobre a necessidade de abstenção, a fim de prevenir danos hepáticos adicionais (BRASIL, 2011).

Os fatores de risco para a aquisição do HCV muitas vezes são os mesmos para a do HIV, o que dificulta suas análises separadamente. Sendo assim, outros fatores como o uso de medicamentos com material não descartável, principalmente os estimulantes injetáveis bastante utilizados entre as décadas de 60 e 80, foram identificados em 9,09% e a tatuagem, em 15,90% dos pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV. Nos pacientes do grupo monoinfeção pelo HCV, observou-se como principal fator de risco a transfusão de sangue, presente em 38,27% dos pacientes, seguida pelo risco sexual (28,39%), uso injetável de medicamentos estimulantes com material não descartável (24,69%) e o uso de drogas, que somadas as injetáveis e inalatórias alcançaram frequência de 20,98%. Esses fatores, embora com frequências um pouco diferentes, também são os que se destacaram no último Boletim Epidemiológico do país, que apresentou o uso de drogas em 27,4% dos casos, seguido pela transfusão de sangue e pelo contato sexual, com 26,9% e 18,5%, respectivamente (BRASIL, 2012). Um achado que difere dos fatores de risco mais comumente descritos na literatura diz respeito ao uso dos estimulantes injetáveis. No entanto, esse fator de risco já foi explorado e identificado como um dos principais para a aquisição do HCV na região de Ribeirão Preto (PASSOS et al., 2008; SOUZA, 2011). O uso de drogas intravenosas, por sua vez, é apontado como o fator de risco mais frequente na população de pacientes coinfectados (DE LEDINGHEN et al., 2008; SAGNELLI et al., 2013).

O modo de descoberta da infecção pelo HCV variou entre os dois grupos analisados. No grupo monoinfecção pelo HCV, cerca de 60% dos pacientes descobriram a infecção ocasionalmente, após doação de sangue e aproximadamente 20% pelos sintomas da hepatite. O diagnóstico da hepatite C em bancos de sangue no Brasil é comum, apresentando prevalência média de 0,9% (ANDRADE et al., 2006; MACCARINI et al., 2013). Dentre os pacientes do grupo coinfecção HIV/HCV, cerca de 65% dos diagnósticos foram realizados durante o seguimento do HIV. Essa porcentagem significativa pode ser atribuída ao fato de que a solicitação dos exames complementares, que inclui o teste anti-HCV, é realizada durante a abordagem inicial do paciente diagnosticado com HIV (BRASIL, 2013b).

A idade acima de 35 anos no momento da biópsia hepática foi relacionada a graus mais avançados de fibrose em pacientes coinfectados (SCHIAVINI et al., 2006). Nos monoinfectados, há relato de que a idade do paciente acima de 40 anos no momento da infecção e o maior tempo de duração da infecção pelo HCV também estão associados com a progressão mais rápida da fibrose hepática (MCCAUGHAN; GEORGE, 2004). No presente estudo, na análise da idade do paciente no momento da biópsia, identificou-se idade média de aproximadamente 40 anos para o grupo coinfecção HIV/HCV e de 43 anos para os pacientes do grupo monoinfecção pelo HCV. O tempo de diagnóstico da infecção pelo HCV não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos, com média de 10,68 anos para os pacientes do grupo coinfecção HIV/HCV e de 11,54 anos para os pertencentes ao grupo monoinfecção pelo HCV.

Com relação ao tipo de genótipo do HCV, o genótipo 1 foi predominante nos grupos coinfecção HIV/HCV e monoinfecção pelo HCV. Esteve presente em 88,0% dos pacientes coinfectados e em 55,0% dos monoinfectados pelo HCV. O genótipo 3 apareceu em segundo lugar, identificado em 11,0% dos pacientes coinfectados e em 44,0% dos monoinfectados. Em relação ao genótipo 1, esses achados estão de acordo com um grande estudo realizado no Brasil com 1688 participantes, que identificou-o como o mais prevalente em todas as regiões do país, com frequência de 65% nos portadores de infecção crônica pelo HCV (CAMPIOTTO et al., 2005). Esse mesmo genótipo também apresentou maior frequência (56,9%) em estudo que avaliou pacientes coinfectados (NAVARRO, 2008).

Na avaliação da biópsia hepática, em relação à atividade necroinflamatória, houve predomínio dos pacientes classificados como A2 ou A3 na classificação METAVIR, ou seja, atividade necroinflamatória moderada e severa: 60,0% dos pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV e 75,67% do grupo monoinfeção pelo HCV. Os níveis de fibrose F0, F1 e F2, considerados mais leves, foram os mais identificados em ambos os grupos – 79,0% dos pacientes coinfectados e 56,0% dos monoinfectados pelo HCV. No entanto, houve diferença estatisticamente significativa na frequência de cirrose hepática entre os pacientes do grupo monoinfeção pelo HCV (34,0%) e coinfeção HIV/HVC (13,0%). A presença de cirrose hepática foi identificada pelo resultado de F4 na biópsia e, em alguns casos, o diagnóstico foi estabelecido pela avaliação clínica acompanhada de exames laboratoriais e de imagem. Nessas situações, os pacientes foram alocados como pertencentes à classificação F3F4, para que fosse possível realizar a comparação dos grupos. A proteção dos pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV em não apresentarem níveis mais graves de fibrose pode estar relacionada à condição imune preservada evidenciada pelo número de linfócitos T CD4⁺ antes e após o tratamento da hepatite C: média de 598,40 cél/mm³ e 628,50 cél/mm³, respectivamente, pela carga viral do HIV indetectável em 71,19% dos pacientes antes do tratamento da hepatite, e a grande cobertura da TARV, que abrangeu 98,0% dos indivíduos coinfectados. O uso da TARV pode contribuir para esse achado, já que foi associado com a progressão mais lenta da fibrose hepática, como descrito anteriormente (BRAU et al., 2006; LOKO et al., 2012; MACIAS et al., 2009). Entretanto, esse fator não deve ser avaliado de maneira isolada, uma vez que vários outros estão envolvidos na progressão da doença hepática. Uma investigação mais detalhada com emprego de análise multivariada poderia ajudar a elucidar essa questão.

Os pacientes do grupo monoinfeção pelo HCV apresentaram maior frequência do diagnóstico de cirrose hepática que os coinfectados. Apesar da esteatose hepática não ter sido avaliada no presente trabalho, a infecção pelo genótipo 3 do HCV, nesse estudo identificada em 44,0% dos indivíduos monoinfectados, já foi associada à essa alteração (MELO et al., 2014; RUBBIA-BRANDT et al., 2001). Além disso, o valor médio do IMC dos pacientes do grupo monoinfeção pelo HCV foi igual a 28,94 kg/m², classificado como sobrepeso, o que poderia predispor ao desenvolvimento da esteatose (PATTON et al., 2004), e consequentemente, a danos no tecido hepático.

O tratamento da hepatite C é o meio mais bem comprovado de prevenir a progressão da doença e as suas complicações (BRUNO et al., 2007; POYNARD et al., 2002) e a RVS ao tratamento também é associada à menor progressão da fibrose em pacientes com a coinfeção (CASADO et al., 2013; LISSEN et al., 2006; LOKO et al., 2012). Dos 68 pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV que completaram o tratamento da hepatite, 21 (30,88%) obtiveram a RVS. A distribuição dos genótipos do HCV foi realizada de acordo com o tipo de resposta: dos pacientes coinfectados que não apresentaram resposta ao tratamento 50,0% possuíam o genótipo 1 e aproximadamente 5,0% o genótipo 3; dos que apresentaram RVS cerca de 20,0% apresentaram genótipo 1 e 9,0%, o genótipo 3. Comparado ao grupo monoinfeção pelo HCV, cerca de 13,0% dos pacientes que não responderam ao tratamento tinham o genótipo 1 e 4,0% o genótipo 3. A maioria dos pacientes monoinfectados apresentou RVS (67,0%), com cerca de 30,0% dos pacientes portando o genótipo 1 e de 37,0% o genótipo 3.

O genótipo 1 é associado com pior prognóstico devido às baixas taxas de resposta ao tratamento em relação aos demais (FRIED et al., 2002) e a associação de PEG-IFN com a RBV apresenta bons resultados de RVS (FRIED et al., 2002; POYNARD et al., 2009). Em um estudo recente que avaliou pacientes coinfectados tratados com PEG-IFN e RBV portadores do genótipo 1, a taxa de RVS foi significativamente maior naqueles que apresentavam nível de RNA-HCV < 600.000 UI/mL, nos que continham graus mais leves de fibrose e nos indivíduos com o genótipo CC da IL-28B (CORCHADO et al., 2014). No presente estudo, a carga viral do HCV pré-tratamento > 400.000 UI/mL em 72,46% dos indivíduos pode ter sido uma das dificuldades para que os pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV atingissem a RVS.

Uma variação de esquemas terapêuticos prescritos para o tratamento da hepatite C também foi identificada neste trabalho. Uma vez que os pacientes recrutados realizaram o tratamento em diferentes períodos - desde o final da década de 1990 até o ano de 2013 - justifica-se a diversidade dos esquemas que foram modificados ao longo do tempo.

O polimorfismo C/T localizado próximo ao gene da IL-28B já foi associado com a resposta ao tratamento da hepatite C, sendo o genótipo CC um forte preditor de RVS em pacientes portadores do genótipo 1 do HCV (GE et al., 2009). Em coinfectados essa associação também foi encontrada, com a conclusão dos autores

de que a genotipagem da IL-28B deveria ser considerada como parte do algoritmo de decisão de tratamento nessa população (RALLÓN et al., 2010).

Exclusivamente para os pacientes com fibrose avançada ou cirrose compensada monoinfectados com HCV e com o genótipo 1 do vírus, em 2012 foi aprovado no Brasil o uso dos antivirais de ação direta BOC e TVR, pertencentes à classe de inibidores de protease. Dessa forma, a terapia tornou-se tripla, pela adição do inibidor de protease ao PEG-IFN associado à RBV (BRASIL, 2013e). Estudos internacionais desenvolvidos com pacientes portadores da coinfeção HIV/HCV mostraram que a adição de TVR ou BOC ao PEG-IFN + RBV proporcionou maiores taxas de RVS em relação ao esquema duplo de PEG-IFN + RBV (SULKOWSKI et al., 2013a; SULKOWSKI et al., 2013b). Entretanto, a complexidade do uso desses novos inibidores de protease em coinfectados fica aumentada devido ao risco de interações medicamentosas com a TARV, e a terapia tripla deve ser utilizada com cautela nesses pacientes enquanto a sua eficácia, tolerabilidade e segurança não forem satisfatoriamente esclarecidas (SULKOWSKI, 2013).

Os pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV e do grupo monoinfecção pelo HCV que realizaram o tratamento da hepatite C apresentaram muitas reações adversas. A mialgia, seguida por febre, fraqueza – incluindo astenia, fadiga e cansaço – cefaleia e hiporexia foram, em ordem decrescente, os sinais e sintomas mais relatados pelos pacientes de ambos os grupos. Importância estatística apresentaram a hiporexia, a anemia e o vômito, com frequência aumentada nos pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV.

As principais reações adversas associadas aos interferons são os sintomas semelhantes aos da infecção gripal (cefaleia, fadiga ou astenia, mialgia, febre, calafrios, náusea, diarreia), alopecia, sintomas psiquiátricos (depressão, labilidade emocional, insônia, ansiedade, reações de pânico), reação nos locais de injeção, neutropenia, trombocitopenia, anemia e piora de doenças autoimunes (BRENNAN, 2003; KOHLI et al., 2014). A RBV apresenta como frequentes reações adversas a anemia hemolítica, teratogenicidade, sintomas gripais, tosse e dispneia, *rash* cutâneo, prurido, insônia e anorexia (BRENNAN, 2003; KOHLI et al., 2014). Os antivirais de ação direta, com ação comprovada em proporcionar maiores taxas de RVS, também não estão isentos de apresentar reações desagradáveis durante o tratamento. As reações adversas mais encontradas com o uso do BOC foram fadiga, anemia, náusea, cefaleia e disgeusia, e com o TVR, anemia, farmacodermia,

trombocitopenia, linfopenia, náusea e desconforto ou prurido anorretal, principalmente nos pacientes que já tinham relato de doenças como hemorróidas e fissuras anais (BRASIL, 2013e).

Em uma comparação de pacientes franceses, portadores da coinfeção, em tratamento com a monoterapia por PEG-IFN ou com a combinação de IFN-PEG + RBV com aqueles que não estavam sendo tratados, a reação adversa mais prevalente nos dois grupos foi a fadiga. Já os sinais e sintomas de perda de apetite, perda de peso, febre, cefaleia e alterações de pele e cabelo foram mais prevalentes no grupo sob tratamento (MARCELLIN et al., 2007). Essas alterações também foram relatadas no presente estudo.

Recentemente, um trabalho com pacientes austríacos avaliou a qualidade de vida e a severidade de fadiga antes, durante e após o tratamento com PEG-IFN + RBV em pacientes coinfectados. A conclusão foi que a terapia medicamentosa prejudica a saúde física e mental e aumenta a fadiga; quando a resposta virológica é alcançada, há melhora da saúde física e dos sintomas de fadiga. Adicionalmente, o controle da anemia é essencial para reduzir os impactos na qualidade de vida e na severidade da fadiga enfrentada pelos pacientes durante a terapia (MANDORFER et al., 2014).

Apesar de não causarem comprometimento da continuidade do tratamento, vários sinais e sintomas psiquiátricos estiveram presentes nos pacientes dos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV, destacando-se a insônia, nervosismo, desânimo, choro fácil e ansiedade, além do relato de ideação suicida em um paciente de cada grupo. As reações adversas relacionadas às alterações neuropsiquiátricas são muito comuns e também podem comprometer a evolução, a eficácia e a segurança do tratamento especialmente nos pacientes coinfectados, que precisam de assistência específica (CORCORAN, 2003; WEISS; MORGELLO, 2009).

No presente trabalho, dos 100 pacientes que fizeram parte do grupo coinfeção HIV/HCV somente 68 completaram o tratamento. Os motivos identificados para explicar a não continuidade do tratamento foram o abandono em 9,0% dos casos, interrupção da terapia devido à reação grave - anemia - em 5,0% dos pacientes e interrupção por piora de outras patologias - síndrome colestática e psoríase (informações não mostradas) em 2,0% dos casos. Dentre os pacientes do grupo monoinfeção pelo HCV somente 1 (1,0%) teve o tratamento interrompido

devido à neutropenia. Em outro recente estudo com pacientes brasileiros coinfectados e tratados com PEG-IFN + RBV, a principal reação adversa que levou à interrupção do tratamento também foi a anemia (FERREIRA et al., 2015).

Das alterações hematológicas, a anemia e a neutropenia apresentaram frequência de 35,71% e de 21,42%, respectivamente, nos pacientes do grupo coinfecção HIV/HCV. Diferenças nas frequências das alterações hematológicas foram identificadas em um recente trabalho multicêntrico com 1523 pacientes italianos coinfectados e tratados com PEG-IFN + RBV: a anemia esteve presente em 12,9% e a neutropenia em 42,8% dos sujeitos e a anemia foi apontada como causa de interrupção do tratamento em 3,1% dos pacientes (PONTALI et al., 2014). Com relação à alta taxa de anemia nos pacientes do grupo coinfecção HIV/HCV, ressalta-se o fato de que grande parte dos indivíduos utilizavam o medicamento AZT, que também tem a toxicidade hematológica como reação adversa, devendo a sua prescrição ser evitada nos pacientes em uso de RBV (BRASIL, 2013b). Para o enfrentamento dessas alterações foram necessários ajustes nas doses das drogas durante a terapia e/ou a introdução de medidas terapêuticas, como a prescrição dos medicamentos filgrastima e eritropoetina em grande parte dos pacientes e da transfusão de sangue, em um número reduzido.

Por sua vez, a plaquetopenia apresentou maior frequência entre os pacientes do grupo monoinfecção pelo HCV no presente estudo, embora a diferença não tenha sido estatisticamente significativa. Possível explicação pode ser o número aumentado de pacientes com cirrose hepática nesse grupo, uma vez que a cirrose, dentre outros fatores, pode contribuir para o desenvolvimento da plaquetopenia em pessoas com infecção crônica pelo HCV (AFDHAL et al., 2008). Apesar das citopenias serem reações adversas frequentes, o tratamento com PEG-IFN + RBV foi considerado seguro nos pacientes coinfectados (PONTALI et al., 2014).

A contribuição dos fatores genéticos envolvendo citocinas no curso da hepatite C ou na resposta ao tratamento em pacientes coinfectados até o momento não foi muito investigada, com exceção da IL-28B. Para tentar compreender um pouco mais sobre essa influência foram avaliados os polimorfismos do TNF- α , da IL-18 e do IFN- γ em indivíduos portadores da coinfecção HIV/HCV, em monoinfectados pelo HCV, em monoinfectados pelo HIV e em indivíduos saudáveis.

Na avaliação inicial das frequências alélicas, genotípica e haplotípicas, realizadas com os quatro grupos em questão, optou-se neste trabalho por maior ênfase na discussão dos resultados que envolvessem o grupo coinfeção HIV/HCV.

Foram identificadas diferenças estatisticamente significantes da frequência de genótipos do TNF- α -238 entre os pacientes dos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV. O TNF- α -238 G/A mostrou-se aumentado nos pacientes do grupo monoinfeção pelo HCV em relação aos do coinfeção HIV/HCV e a frequência do TNF- α -238 G/G foi maior nos coinfectados que nos monoinfectados pelo HCV. Não foram identificados estudos semelhantes que avaliaram tal polimorfismo entre esses dois grupos de pacientes. Ademais, a influência do polimorfismo TNF- α -238 G/A ainda não está muito bem descrita no que diz respeito à produção da citocina. O papel desse polimorfismo na produção do TNF- α foi avaliado por meio da estimulação de monócitos de indivíduos saudáveis *in vitro* por LPS ou por estimulação alogênica e constatou-se que o nível médio de produção do TNF- α não foi significativamente diferente em homozigotos G/G ou heterozigotos G/A após cada tipo de estimulação (POCIOT et al., 1995). Recentemente, outro estudo corroborou o anterior e também demonstrou que monócitos de indivíduos saudáveis com genótipo G/G ou G/A do TNF -238, estimulados com LPS, não apresentaram diferença significativa na produção de TNF- α (CORCHADO et al., 2013).

Alguns estudos que avaliaram o RNAm de células de biópsia hepática não constataram diferença dos níveis intra-hepáticos do RNAm do TNF- α entre os indivíduos coinfectados, em tratamento ou não com ARV, em relação aos monoinfectados pelo HCV (BLACKARD et al., 2006; GONZALEZ et al., 2008). Já Sitia et al., (2006) mostraram que o nível intra-hepático de RNAm do TNF- α foi maior dentre os coinfectados que não haviam sido submetidos à TARV em relação aos coinfectados sob TARV e aos monoinfectados.

Na avaliação do TNF- α -308, os pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV apresentaram resultados estatisticamente significantes na comparação com os controles saudáveis: as frequências do genótipo TNF- α -308 G/A e do alelo TNF- α -308 A estavam aumentadas no grupo coinfeção HIV/HCV e do genótipo TNF- α -308 G/G e do alelo TNF- α -308 G estavam aumentadas no grupo controles saudáveis. Nesse sentido, pode-se inferir que o genótipo TNF- α -308 G/A e o alelo

TNF- α -308 A estejam associados com a susceptibilidade à coinfeção. No entanto, um estudo espanhol que envolveu a determinação dos polimorfismos do TNF- α entre indivíduos saudáveis e pacientes com a coinfeção HIV/HCV não identificou diferença estatisticamente significativa na avaliação dos genótipos e alelos do polimorfismo TNF- α -308 G/A entre esses grupos (CORCHADO et al., 2013).

No tocante às frequências alélicas e genóticas dos SNPs -607 e -137 da IL-18, não foram observadas diferenças significativas entre o grupo coinfeção HIV/HCV e os demais.

Com relação ao SNP +874 do IFN- γ , as diferenças estatisticamente significantes foram identificadas na variação das frequências genóticas entre os pacientes coinfectados e monoinfectados pelo HCV. A frequência do genótipo +874 A/A foi maior no grupo coinfeção HIV/HCV e do +874 T/A foi maior no grupo monoinfeção pelo HCV. Até o momento, não foram reconhecidos estudos com comparação deste polimorfismo entre pacientes mono e coinfectados, mas a frequência aumentada do alelo baixo produtor do IFN- γ +874, identificada nos pacientes do presente estudo, concorda com os achados de outros trabalhos que, na avaliação de níveis de RNAm intra-hepáticos do IFN- γ , encontraram menores valores em pacientes coinfectados em relação aos monoinfectados pelo HCV (ABBATE et al., 2004; BLACKARD et al., 2006; GONZALEZ et al., 2008). Em contraste, outros estudos apontaram maiores níveis intra-hepáticos de RNAm do IFN- γ em coinfectados (KUNTZEN et al., 2008; SITIA et al., 2006). Ressalta-se que esses dois conjuntos de estudos que encontraram níveis mais altos ou mais baixos de RNAm do IFN- γ intra-hepático continham pacientes em tratamento ou não com TARV.

A distribuição do genótipo IFN- γ +874 T/A também apresentou-se diferente entre os grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HIV, com maior frequência neste último. Na ausência de associação similar em outros trabalhos, somente foi possível identificar diferenças nas dosagens séricas dessa citocina. Na análise dos níveis plasmáticos de citocinas entre pacientes monoinfectados pelo HIV, monoinfectados pelo HCV e coinfectados, o nível de IFN- γ foi maior entre os portadores do HIV, embora essa avaliação tenha ocorrido com um número restrito de sujeitos (RAHMAN et al., 2011).

Com relação à avaliação dos haplótipos, o grupo coinfeção HIV/HCV não apresentou diferença na frequência dos haplótipos da IL-18 quando comparado aos demais grupos. Já o haplótipo -238A/-308A do TNF- α foi mais frequente no grupo monoinfeção pelo HCV que no grupo coinfeção HIV/HCV e o -238G/-308G mais frequente no grupo coinfeção HIV/HCV que no monoinfeção pelo HCV; o haplótipo TNF- α -238G/-308A teve frequência superior nos pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV em relação aos do grupo controles saudáveis. Não foram encontrados outros estudos desses haplótipos em pacientes coinfectados para fins de comparação.

Na análise da atividade necroinflamatória hepática, os pacientes classificados como A0A1 do grupo monoinfeção pelo HCV apresentaram maior frequência do genótipo +874 T/A do IFN- γ que os do coinfeção HIV/HCV com a mesma classificação. Quando as frequências alélicas e genotípicas foram comparadas de acordo com os diferentes graus de atividade necroinflamatória (A0A1 x A2A3) dentro do mesmo grupo de pacientes, não houve associação estatisticamente significativa entre os pacientes do grupo monoinfeção pelo HCV. No grupo coinfeção HIV/HCV, a frequência do genótipo da IL-18 -137 G/C entre os pacientes com atividade necroinflamatória A0A1 foi superior à dos classificados em A2A3. Estudo realizado com pacientes monoinfectados pelo HCV com o genótipo 3 do vírus, também não observou diferenças significativas entre os graus de atividade inflamatória e os polimorfismos -308 do TNF- α e +874 do IFN- γ (ABBAS et al., 2005). Pesquisadores indianos avaliaram a associação dos polimorfismos -607 e -137 da IL-18 com a severidade da doença hepática em monoinfectados pelo HCV, classificada como doença hepática leve ou grave, de acordo com os resultados da atividade necroinflamatória e fibrose. Também não foi identificada diferença na frequência alélica do SNP -137 da IL-18 entre os pacientes independentemente do grau de doença hepática (MANOHAR et al., 2009). Entretanto, o alelo A na posição -607 foi considerado um potencial marcador de proteção, uma vez que foi associado à doença hepática mais leve em pacientes com infecção crônica pelo HCV (MANOHAR et al., 2009), diferindo do que foi aqui observado.

As frequências alélicas e genotípicas dos SNPs -308 e -238 do TNF- α , +874 do IFN- γ e -607 e -137 da IL-18 também foram comparadas entre os pacientes monoinfectados pelo HCV e coinfectados, conforme a classificação da fibrose

hepática. Dentre os pacientes com fibrose F3F4, houve maior frequência do genótipo G/A do TNF- α -238 no grupo monoinfecção pelo HCV que no coinfeção HIV/HCV e maior frequência do TNF- α -238 G/G neste último.

Até o momento, somente dois estudos além deste investigaram a relação do polimorfismo de citocinas com a fibrose hepática em pacientes coinfectados. Os polimorfismos -308 e -238 do TNF- α foram avaliados e o genótipo -238 G/G foi associado com a probabilidade de desenvolvimento de cirrose (CORCHADO et al., 2013, 2014), convergindo com o achado do presente estudo.

Alguns outros trabalhos investigaram os polimorfismos -308 e -238 do TNF- α em pacientes monoinfectados pelo HCV. Bouzgarrou et al. (2010) não identificaram diferenças significativas na distribuição dos genótipos do SNP -308 do TNF- α entre pacientes classificados com fibrose leve a moderada (F1-F2) e grave (F3-F4) no escore METAVIR.

Em pacientes com hepatite C crônica, o alelo -308 A do TNF- α foi associado com estágios graves de fibrose (DAI et al., 2006a) e na avaliação dos polimorfismos -308 e -238 entre pacientes com e sem cirrose, os alelos -238 A e -308 A foram associados com o risco aumentado para a cirrose hepática (YEE et al., 2000). Outro estudo brasileiro identificou predomínio do genótipo -308 G/A em pacientes considerados fibrosantes rápidos em relação aos que desenvolveram fibrose mais lentamente (SOUZA, 2011). Nesse mesmo estudo não houve associação do polimorfismo -238 do TNF- α com gravidade da fibrose hepática ou tempo de evolução para cirrose (SOUZA, 2011).

Radwan et al. (2012) compararam o SNP -308 do TNF- α entre controles saudáveis, pacientes portadores do HCV com cirrose e portadores do HCV com CHC e identificaram frequências significativamente aumentadas dos genótipos A/A e G/A do TNF- α -308 entre os grupos com cirrose e CHC. Apesar do presente trabalho não ter avaliado pacientes com CHC, foi identificado na população brasileira o risco significativamente alto de associação dos alelos -238 A e -308 A e genótipos -238 G/A e -308 G/A do TNF- α com essa doença (TEIXEIRA et al., 2013).

Não foram identificadas associações dos polimorfismos -607 e -137 da IL-18 com a fibrose hepática nos dois grupos avaliados no presente trabalho, e o mesmo ocorreu em outro estudo com pacientes monoinfectados pelo HCV que não identificou a associação desses polimorfismos com a gravidade da fibrose hepática e

com o tempo de evolução para a cirrose (SOUZA, 2011). Contrariamente a esses achados, a presença de pelo menos um alelo C na posição -607 já foi previamente associada com o risco aumentado de progressão mais severa da infecção crônica pelo HCV em pacientes monoinfectados na Tunísia (BOUZGARROU et al., 2008). Outro trabalho confirma o resultado do anterior referente ao SNP -607 da IL-18 por considerar o alelo A um marcador de proteção ao agravamento da doença hepática pelo HCV também em monoinfectados (MANOHAR et al., 2009).

Ainda com relação aos resultados da associação dos polimorfismos com os graus de fibrose hepática no presente estudo, em pacientes classificados com fibrose F0-F2 foram identificadas diferenças de frequências dos genótipos do IFN- γ : a frequência do +874 A/A foi superior nos pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV e do +874 T/A, nos do monoinfeção pelo HCV. Desse modo, pode-se inferir que a frequência aumentada do genótipo baixo produtor do IFN- γ nos pacientes coinfectados pode estar relacionada com o menor desenvolvimento de graus avançados de fibrose e cirrose nesse grupo.

Na associação entre as frequências alélicas e genotípicas e os diferentes graus de fibrose hepática dentro do mesmo grupo de pacientes, novamente houve destaque do IFN- γ . Nos pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV, a frequência do genótipo IFN- γ +874 T/T apresentou-se maior nos pacientes com fibrose F3F4 em relação aos que apresentaram F0-F2. Esse resultado possibilita a inferência de que os pacientes coinfectados que carregam o genótipo relacionado à alta produção do IFN- γ apresentam piora do quadro clínico, com agravamento dos graus de fibrose. No grupo monoinfeção pelo HCV, os pacientes com fibrose F0-F2 apresentaram maior frequência do genótipo IFN- γ +874 T/A que os com F3F4.

Em pacientes monoinfectados pelo HCV, Abbott et al. (2004) avaliaram esse polimorfismo do IFN- γ e não encontraram associação com a gravidade da doença, assim como também Souza (2011) não identificou associação com a gravidade da fibrose e com o tempo de evolução para cirrose. Porém, associação significativa entre o alelo T e cirrose hepática foi identificada em pacientes taiwaneses com hepatite C crônica (DAI et al., 2006b).

Na avaliação das frequências alélicas e genotípicas e suas relações com os tipos de resposta ao tratamento da hepatite C não foram encontradas associações estatisticamente significantes entre os pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV. O

outro estudo que analisou a relação do polimorfismo -238 do TNF- α com a resposta ao tratamento da hepatite C em pacientes com a coinfeção HIV/HCV tratados com PEG-IFN + RBV também não identificou associação desse polimorfismo com a RVS (CORCHADO et al., 2014).

Na avaliação dos pacientes do grupo monoinfecção pelo HCV foram encontradas associações entre a RVS e a RVNS e os alelos e genótipos do TNF- α -238. O genótipo TNF- α -238 G/A e o alelo TNF- α -238 A foram mais frequentes nos pacientes com RVNS e o genótipo TNF- α -238 G/G e o alelo TNF- α -238 G apresentaram maior frequência nos pacientes com RVS.

O TNF- α foi uma das citocinas mais avaliadas com relação à influência de seus polimorfismos -308 e -238 na resposta ao tratamento da hepatite C em pacientes monoinfectados. Independentemente do genótipo do HCV ou do tipo de esquema terapêutico – monoterapia com IFN- α , terapias combinadas de IFN- α + RBV ou PEG-IFN + RBV, grande parte dos estudos não identificou associação desses polimorfismos com a RVS ao tratamento (ABBAS et al., 2005; AIROLDI et al., 2004; CONSTANTINI et al., 2002; MORGAN et al., 2008; ROSEN et al., 2002b; SCHIEMANN et al., 2003; VIDIGAL; GERMER; ZEIN, 2002; YEE et al., 2001; YU et al., 2003). Dai et al. (2006c), ao investigarem a influência dos SNPs -308 e -238 do TNF- α na resposta à terapia combinada de IFN- α + RBV identificaram maiores taxas de RVS em pacientes que não apresentavam o alelo -308 A. Grandi et al. (2014) em recente avaliação de pacientes brasileiros tratados com PEG-IFN + RBV constataram um aumento significativo do risco de ausência de resposta ao tratamento nos portadores de pelo menos um alelo A nas posições -308 ou -238, concordando com o achado do trabalho anterior em relação ao SNP -308 e também do presente estudo, em que o alelo -238 G foi associado à RVS.

Associações dos polimorfismos da IL-18 com a resposta à terapia medicamentosa não foram identificadas neste trabalho, entretanto, foram descritas em dois outros estudos com pacientes monoinfectados pelo HCV. Recente investigação na população paquistanesa encontrou maior frequência do genótipo -607 A/A em pacientes com RVS em relação aos não respondedores à terapia com IFN- α + RBV, e nenhuma associação foi identificada com o SNP -137 (IMRAN; MANZOOR; PARVAIZ, 2014). Em pacientes europeus tratados com IFN- α + RBV ou PEG-IFN + RBV com o genótipo 1 do HCV, o alelo -607 A foi associado

positivamente com a resposta ao tratamento e o alelo -137 G com maior taxa de ausência de resposta (HAAS et al., 2009).

Com relação à influência do polimorfismo +874 do IFN- γ na resposta ao tratamento da hepatite C em pacientes monoinfectados, não foram identificadas associações entre as frequências alélicas e genotípicas desse polimorfismo em pacientes iranianos respondedores e não respondedores à terapia com PEG-IFN + RBV (SARVARI et al., 2014). Adicionalmente, Abbas et al. (2005) não observaram a influência de tal polimorfismo na RVS de indivíduos com o genótipo 3 do HCV tratados com IFN- α + RBV, assim como também Dai et al. (2005) em pacientes taiwaneses tratados com IFN- α + RBV.

A dominância de citocinas Th1, especialmente do IFN- γ , dosadas no soro de pacientes monoinfectados com o genótipo 1b do HCV em relação aos controles, anteriormente e nas semanas 4 e 12 do tratamento com PEG-IFN + RBV foi considerada um potencial preditor da resposta viral, apoiando o importante papel da resposta imune do hospedeiro durante a terapia combinada (ZHANG et al., 2011).

Até o presente, identificou-se que esta foi a primeira pesquisa a avaliar a relação dos polimorfismos da IL-18 e do IFN- γ com a gravidade da doença hepática pelo HCV e com a resposta ao tratamento da hepatite C em pacientes com a coinfeção HIV/HCV. Adicionalmente, foi o primeiro estudo realizado com pacientes brasileiros coinfectados que analisou a influência também dos polimorfismos do TNF- α na necroinflamação e fibrose hepática e nos tipos de resposta à terapia medicamentosa.

Devido à escassez de trabalhos desenvolvidos com população semelhante, muitos dos resultados envolvendo os polimorfismos no grupo de pacientes coinfectados foram comparados com desfechos observados em estudos prévios realizados com pacientes monoinfectados pelo HCV. Além dessa dificuldade, as divergências de resultados observadas podem estar relacionadas às diferenças étnicas entre as populações comparadas e aos desenhos metodológicos desiguais.

Alguns resultados referentes à caracterização clínica dos pacientes não apresentaram conformidade com os relatos mais comumente encontrados na literatura, como por exemplo, importante número de pacientes do grupo monoinfecção pelo HCV portadores do genótipo 3 do vírus e elevada porcentagem dos pacientes desse grupo portadores de cirrose hepática em relação aos do grupo

coinfecção HIV/HCV. Uma das possíveis explicações para esses achados pode estar relacionada ao modo de recrutamento dos participantes, que se restringiu à seleção de sujeitos que possuíam amostra biológica armazenada nos bancos de amostras.

A patogênese da hepatite C, principalmente em indivíduos com a coinfecção pelo HIV, é multifatorial e complexa. A identificação de inéditas associações dos polimorfismos dos alelos e genótipos das citocinas em pacientes coinfectados com a progressão da doença hepática contribuiu para aumentar a compreensão sobre a participação das citocinas inflamatórias nesse processo. Assim, esses achados podem auxiliar no desenvolvimento de estratégias para um melhor atendimento a esses pacientes.

6.1 Implicações para a prática de Enfermagem

Diante do cenário atual da coinfecção pelos HIV e HCV e como parte da equipe multiprofissional de assistência ao paciente, o enfermeiro é o profissional capacitado para realizar ações educativas, avaliação e monitorização clínica, fornecer suporte durante a terapia medicamentosa da hepatite C, auxiliar no controle efetivo das reações adversas oriundas do tratamento e desenvolver estratégias para aumentar a aderência aos medicamentos (POZZA, 2008).

O cuidado se inicia no momento em que o enfermeiro oferece e encoraja a realização dos testes diagnósticos tanto do HIV quanto do HCV, proporcionando o aconselhamento pré e pós-teste e a possibilidade do diagnóstico precoce.

Uma vez que o diagnóstico da hepatite C for estabelecido em um paciente portador do HIV, cabe ao enfermeiro orientá-lo e ajudá-lo a entender a infecção pelos dois vírus. Para melhor compreensão da patologia, o paciente necessitará de informações sobre os tipos de genótipos do HCV e sua influência na resposta ao tratamento, os fatores que podem interferir na progressão da doença, além de orientações sobre a biópsia hepática e sobre o tratamento medicamentoso (FERRI; KIRTON, 2003; STRINGARI-MURRAY; CLAYTON; CHANG, 2003).

O rápido avanço das pesquisas na área de genética e genômica permitiu que esses conhecimentos fossem cada vez mais integrados no rastreio, prevenção,

diagnóstico e tratamento das doenças. Esse avanço possibilitou também um aprimoramento da compreensão sobre a biologia das doenças, resultando em novas e mais personalizadas terapias e influenciando decisões sobre o cuidado à saúde (CALZONE et al., 2013). Assim, faz-se necessário que o enfermeiro esteja capacitado para entender esse contexto e esclarecer os potenciais usos, benefícios e desafios da genômica ao paciente, durante seu acompanhamento (CALZONE et al., 2013).

Adicionalmente, antes do início do tratamento, é de extrema importância que os pacientes sejam orientados também sobre outros aspectos. Os riscos e impactos do uso de drogas e álcool no curso dessas patologias e de seus tratamentos devem ser abordados e discutidos e os pacientes aconselhados, com o apoio de programas específicos, a permanecerem em abstenção (FERRI; KIRTON, 2003). A orientação quanto à necessidade de aderência à terapia para uma melhor resposta deve ser fortemente encorajada nos pacientes coinfetados, uma vez que apresentaram maior risco de problemas de aderência em relação aos monoinfetados pelo HCV nas 12 primeiras semanas após seu início (PIZZIRUSSO et al., 2014). Os riscos e benefícios do tratamento, principalmente com relação às possíveis reações adversas também necessitam ser discutidos (FERRI; KIRTON, 2003). Em adição, devido ao grande impacto da terapia sobre as funções neuropsiquiátricas, o paciente deverá ser avaliado e, se necessário assistido, para que possua estabilização de sintomas psiquiátricos previamente ao início da terapia, a fim de se evitar agravos e descontinuação do tratamento (WEISS; MORGELLO, 2009).

Na administração dos medicamentos, especialmente do PEG-IFN que deve ser aplicado por via subcutânea uma vez por semana, caso o paciente opte por receber as injeções nos serviços de saúde, o enfermeiro poderá utilizar essa oportunidade para acompanhar a sua assiduidade no recebimento das doses, monitorar sua condição clínica mais de perto e estimular sua aderência à terapia. Caso a opção seja por realizar as injeções em domicílio, o paciente deverá ter sua autonomia para o autocuidado estimulada. Nesse caso, é papel do enfermeiro orientá-lo sobre todo o processo de medicação, desde o recebimento da droga, passando pelo transporte e acondicionamento, técnica de administração até o descarte do material perfurocortante.

Em consonância com as orientações sobre a administração dos medicamentos, está o plano de cuidados da enfermagem para o auxílio no manejo

das reações adversas. Durante a terapia, o enfermeiro deverá ser capaz de identificar as alterações, implementar e orientar os cuidados (BRENNAN, 2003; FERRI; KIRTON, 2003). Para aliviar os sintomas associados ao uso do IFN, os pacientes podem ser orientados a fazer uso de analgésicos prescritos na hora que antecede a administração da injeção, desde que não tenham o diagnóstico de cirrose. As aplicações planejadas para o horário noturno, preferencialmente antes de dormir, são uma boa estratégia para que o desconforto seja diminuído e as reações não percebidas durante o sono. O aumento da ingesta hídrica também é recomendado (POZZA, 2008). A terapia com a RBV só deverá ser iniciada após obtenção de resultado negativo em teste de gravidez, devido aos efeitos teratogênicos dessa droga. Assim, orientações de que a gravidez deve ser evitada em pacientes do sexo feminino ou em parceiras de pacientes do sexo masculino que estejam em tratamento e até seis meses após seu término necessitam ser fornecidas (PEGASYS®, 2014). A náusea, possivelmente desencadeada por esses dois medicamentos, pode ser minimizada quando a RBV, administrada em duas doses diárias por via oral, for ingerida com alimentos. Outras medidas como refeições fracionadas e uso de gengibre também mostraram-se eficazes (POZZA, 2008). Um estudo francês associou a ingestão de café e a redução de desconfortos autorrelatados decorrentes da terapia com PEG-IFN + RBV em pacientes coinfectados. Os autores identificaram que os pacientes que bebiam três ou mais copos de café por dia eram menos propensos a relatar reações adversas que os que não ingeriam a bebida e que o resultado proporciona uma sugestão simples e barata para o alívio da toxicidade do tratamento (CARRIERI et al., 2012).

A depender da gravidade das reações adversas, o paciente precisa saber que o IFN e a RBV podem sofrer redução de doses, porém, que isso não acontece com o BOC e o TVR, pelo risco de resistência (BRASIL, 2013e; PIZZIRUSSO et al., 2014). Para os antivirais de ação direta, a recomendação é que sejam administrados a cada 8 horas por via oral juntamente com alimentos, com destaque para o TVR, que necessita ser ingerido com alimentos ricos em gordura para a garantia de seu efeito terapêutico (BRASIL, 2013e).

Frente à complexidade da terapia medicamentosa da hepatite C e de suas exigências, o enfermeiro deve estar atento e prezar não só pela aderência a esses medicamentos mas também aos ARV e aos demais de uso concomitante (PIZZIRUSSO et al., 2014). Sendo assim, a realização de telefonemas semanais e

consultas de enfermagem periódicas podem permitir que o enfermeiro avalie constantemente o paciente e forneça os auxílios necessários, garantindo bem-estar físico e emocional (CORCORAN, 2003). Além disso, estimular os apoios familiar e social é de grande valia para que o paciente sinta-se amparado e acolhido durante essa difícil fase (POZZA, 2008).

Um grande desafio para o enfermeiro é a elaboração de um plano de cuidados voltados aos pacientes que são inelegíveis para iniciar ou que não responderam ao tratamento. Esses indivíduos necessitam ainda mais de uma atenção integral, com profissionais que entendam suas experiências anteriores e que possam auxiliá-los com suporte psicoemocional, frente às incertezas do futuro (FARRELL; COMISKEY, 2014).

Algumas possibilidades de esperança para os pacientes surgem com as pesquisas sobre novos fármacos para o tratamento da hepatite C, que estão em pleno desenvolvimento. Os novos esquemas de antivirais diretos sem interferon são compostos de medicamentos orais de alta eficácia, que exigem um menor tempo de tratamento e que apresentam menos efeitos colaterais em relação aos já disponíveis. Isso garantirá mais de uma opção de tratamento, com a possibilidade de sua simplificação e maior bem-estar.

A aplicação de pesquisas da área básica na prática, particularmente da imunogenética, também colabora para o aumento da qualidade do cuidado oferecido a esses pacientes. A enfermagem através de seu foco na promoção em saúde, cuidado e compreensão das necessidades individuais, incluindo o relacionamento do paciente com sua família, comunidade e sociedade, é uma das profissões que apresenta maiores condições de fazer essa articulação das pesquisas com a prática clínica (CALZONE et al., 2013).

Neste trabalho, para a avaliação dos polimorfismos das citocinas IL-18, IFN- γ e TNF- α utilizou-se a abordagem do estudo de associação, do tipo caso-controle. Esse tipo de estudo permite avaliar a variação genética entre aqueles que possuem ou não determinada doença ou evento de interesse e ajuda a identificar a contribuição genética para o risco de doenças, além de possibilitar a identificação de potenciais alvos para o desenvolvimento de drogas (CONLEY et al., 2013). Assim, como resultados da avaliação dos polimorfismos dessas citocinas foram identificadas diferenças nas frequências alélicas, genotípicas e haplotípicas entre os pacientes dos quatro grupos estudados. Ademais, associações entre os alelos e

genótipos das citocinas e os graus de atividade necroinflamatória e fibrose hepática e os tipos de resposta ao tratamento da hepatite C nos pacientes dos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfeção pelo HCV também foram observadas. Por conseguinte, pode-se concluir que esses resultados permitiram a ampliação do conhecimento sobre a participação do polimorfismo dessas citocinas nas infecções pelos HIV e HCV.

O domínio das abordagens tecnológicas atuais em genômica instrumentalizam o enfermeiro para atuar em diferentes áreas, como por exemplo, na educação – profissional, do paciente e de seus familiares, pesquisa, atendimento clínico e na saúde pública. Exige também do profissional a prática fundamentada na ética, devido ao uso do DNA em pesquisas e testes, garantindo a preservação da privacidade e confidencialidade da informações contidas no material genético (CONLEY et al., 2013).

Frente a esse contexto, a compreensão dos avanços das ciências da genética e genômica estimula o desenvolvimento da liderança no enfermeiro, que poderá traduzir os novos conhecimentos em práticas de saúde e traçar políticas para implementar mudanças na prática e na educação da enfermagem. Tudo isso visando a promoção do cuidado competente, holístico, individualizado e baseado em evidências científicas (CONLEY et al., 2013).

Conclusões

7 CONCLUSÕES

De acordo com a proposta de investigação e os resultados obtidos, concluiu-se que:

Na caracterização dos sujeitos do estudo segundo as variáveis sócio-demográficas e clínicas houve predomínio de indivíduos do sexo masculino, com pele de cor branca e, dentre os pacientes, idade superior a 40 anos. O tempo médio de diagnóstico da infecção pelo HIV foi de aproximadamente 13 anos, e a maioria dos pacientes com esse diagnóstico apresentou carga viral indetectável e estava sob TARV. O tempo médio de diagnóstico da infecção pelo HCV foi de aproximadamente 11 anos, sendo o genótipo 1 do vírus o mais frequente. Nos pacientes dos grupos coinfeção HIV/HCV e monoinfecção pelo HCV, no tocante à biópsia hepática, houve predomínio da classificação de atividade necroinflamatória A2A3 e de fibrose F0-F2 em ambos. O diagnóstico de cirrose hepática predominou nos pacientes do grupo monoinfecção pelo HCV. O esquema terapêutico mais utilizado no tratamento da hepatite C foi a combinação de PEG-IFN + RBV. No grupo coinfeção HIV/HCV, a maior parte dos pacientes tratados que não responderam à terapia possuía o genótipo 1 do HCV. A maioria dos pacientes monoinfectados que apresentaram RVS possuía o genótipo 3 do HCV.

Os principais sinais e sintomas relacionados às reações adversas do tratamento da hepatite C foram mialgia, febre, fraqueza (com inclusão de astenia, fadiga e cansaço), cefaleia e hiporexia. Anemia, hiporexia e vômito foram mais frequentes nos pacientes do grupo coinfeção HIV/HCV.

Na tipificação e comparação dos polimorfismos nos quatro grupos - coinfeção HIV/HCV, monoinfecção pelo HIV, monoinfecção pelo HCV e controles saudáveis observou-se: diferenças nas frequências genotípicas do SNP -238 do TNF- α e +874 do IFN- γ entre pacientes do grupos monoinfecção pelo HCV e coinfeção HIV/HCV; maior frequência do genótipo +874 T/A do IFN- γ no grupo monoinfecção pelo HIV em relação ao coinfeção HIV/HCV e associação dos genótipos e alelos do SNP -308 do TNF- α com susceptibilidade e proteção à coinfeção HIV/HCV.

Na identificação e comparação dos haplótipos foram identificadas diferenças estatisticamente significantes na frequência dos haplótipos do TNF- α entre os grupos monoinfecção pelo HCV e coinfecção HIV/HCV e entre controles saudáveis e coinfecção HIV/HCV.

Na associação dos alelos e genótipos dos polimorfismos da IL-18, do IFN- γ e do TNF- α com o grau de atividade necroinflamatória e fibrose hepática e a resposta ao tratamento da hepatite C nos pacientes dos grupos coinfecção HIV/HCV e monoinfecção pelo HCV:

- Houve diferenças na frequência do genótipo +874 T/A do IFN- γ entre os grupos na avaliação da atividade necroinflamatória hepática classificada como A0A1; na avaliação intragrupo coinfecção HIV/HCV, a diferença observada foi na frequência do genótipo -137 G/C da IL-18 entre os portadores de atividade necroinflamatória A0A1 e A2A3.

- Entre os grupos coinfecção HIV/HCV e monoinfecção pelo HCV, na avaliação da fibrose hepática F3F4, houve diferenças nas frequências genotípicas do SNP -238 do TNF- α ; na avaliação da fibrose F0-F2, a diferença foi nas frequências genotípicas do SNP +874 do IFN- γ . No grupo coinfecção HIV/HCV houve frequência aumentada do genótipo +874 T/T do IFN- γ nos sujeitos com fibrose F3F4 em relação aos com F0-F2; no grupo monoinfecção pelo HCV houve frequência aumentada do genótipo +874 T/A naqueles com fibrose F0-F2 em relação aos com F3F4.

- Não foram encontradas associações estatisticamente significantes entre as frequências alélicas e genotípicas estudadas com os tipos de resposta ao tratamento da hepatite C nos pacientes do grupo coinfecção HIV/HCV; nos pacientes do grupo monoinfecção pelo HCV, a frequência do genótipo -238 G/A e do alelo -238 A do TNF- α foi maior naqueles com RVNS em relação aos que apresentaram RVS; o genótipo -238 G/G e o alelo -238 G do TNF- α foram mais frequentes nos pacientes com RVS em relação aos com RVNS.

Referências

REFERÊNCIAS¹

- ABBAS, Z. et al. Effect of cytokine gene polymorphism on histological activity index, viral load and response to treatment in patients with chronic hepatitis C genotype 3. **World Journal of Gastroenterology**, v. 11, n. 42, p. 6656-6661, 2005.
- ABBATE, I. et al. Intra-hepatic messenger RNA levels for interferons and related genes in hepatitis C virus/HIV co-infected patients. **AIDS**, v. 18, n. 4, p. 691-692, 2004.
- ABBOTT, W. G. et al. Single nucleotide polymorphisms in the interferon-gamma and interleukin-10 genes do not influence chronic hepatitis C severity or T-cell reactivity to hepatitis C virus. **Liver international**, v. 24, n. 2, p. 90-97, 2004.
- AFDHAL, N. H. The natural history of hepatitis C. **Seminars in Liver Disease**, v. 24 supl. 2, p. 3-8, 2004.
- AFDHAL, N. et al. Thrombocytopenia associated with chronic liver disease. **Journal of Hepatology**, v. 48, n. 6, p. 1000-1007, 2008.
- AIROLDI, A. et al. Lack of a strong association between HLA class II, tumour necrosis factor and transporter associated with antigen processing gene polymorphisms and virological response to alpha-interferon treatment in patients with chronic hepatitis C. **European Journal of Immunogenetics**, v. 31, n. 6, p. 259-265, 2004.
- AKCAM, F. Z. et al. Cytokine levels and histopathology in chronic hepatitis B and chronic hepatitis C. **Journal of Interferon & Cytokine Research**, v. 32, n. 12, p. 570-574, 2012.
- ALCABES, P. et al. Maturity of human immunodeficiency virus infection and incubation period of acquired immunodeficiency syndrome in injecting drug users. **Annals of Epidemiology**, v. 4, n. 1, p. 17-26, 1994.
- ANDRADE, A. F. et al. Seroprevalence of hepatitis B and C virus markers among blood donors in Rio de Janeiro, Brazil, 1998-2005. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 6, p. 673-676, 2006.

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

AROUCHA, D. C. et al. High tumor necrosis factor-alpha/interleukin-10 ratio is associated with hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. **Cytokine**, v. 62, n. 3, p. 421-425, 2013.

BACCHETTI, P.; MOSS, A. R. Incubation Period of Aids in San-Francisco. **Nature**, v. 338, n. 6212, p. 251-253, 1989.

BANSAL, A. S. et al. Serum soluble CD23 but not IL8, IL10, GM-CSF, or IFN-g Is elevated in patients with hepatitis C infection. **Clinical Immunology and Immunopathology**, v. 84, n. 2, p. 139–144, 1997.

BARONE, A. A. Hepatite C. Imunopatogênese. In: **Veronesi: tratado de infectologia**. 4. ed. São Paulo: Editora Atheneu, v. 1, 2009. cap. 22.5.3, p. 547-553.

BARONI, G. S. et al. Interferon gamma decreases hepatic stellate cell activation and extracellular matrix deposition in rat liver fibrosis. **Hepatology**, v. 23, n. 5, p. 1189-1199, 1996.

BATALLER, R.; BRENNER, D. A. Liver fibrosis. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 115, n. 2, p. 209-218, 2005.

BEDIMO, R. et al. Hepatitis C virus coinfection and the risk of cardiovascular disease among HIV-infected patients. **HIV Medicine**, v. 11, n. 7, p. 462-468, 2010.

BEDOSSA, P.; POYNARD, T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. **Hepatology**, v. 24, n. 2, p. 289-293, 1996.

BERTOLETTI, A. et al. Different cytokine profiles of intraphepatic T cells in chronic hepatitis B and hepatitis C virus infections. **Gastroenterology**, v. 112, n. 1, p. 193-199, 1997.

BERTOLETTI, A.; FERRARI, C. Kinetics of the immune response during HBV and HCV infection. **Hepatology**, v. 38, n. 1, p. 4-13, 2003.

BLACKARD, J. T. et al. Intrahepatic cytokine expression is downregulated during HCV/HIV co-infection. **Journal of Medical Virology**, v. 78, n. 2, p. 202-207, 2006.

BOUZGARROU, N. et al. Association of interleukin-18 polymorphisms and plasma level with the outcome of chronic HCV infection. **Journal of Medical Virology**, v. 80, n. 4, p. 607-614, 2008.

BOUZGARROU, N. et al. Lack of effect of tumor necrosis factor-alpha -308 G/A polymorphism on severity of liver fibrosis in Tunisian hepatitis C virus (HCV)-infected patients. **Gastroentérologie Clinique et Biologique**, v. 34, n. 4-5, p. 297-304, 2010.

BOUZGARROU, N. et al. Combined effect of pro- and anti-inflammatory cytokine gene polymorphisms on susceptibility to liver cirrhosis in Tunisian HCV-infected patients. **Hepatology international**, v. 5, n. 2, p. 681-687, 2011.

BRADLEY, J. R. TNF-mediated inflammatory disease. **The Journal of pathology**, v. 214, n. 2, p. 149-160, 2008.

BRASIL. Portaria nº 1376, de 19 de novembro de 1993. Aprova alterações na Portaria nº 721/GM, de 09/08/89, que aprova Normas Técnicas para coleta, processamento e transfusão de sangue, componentes e derivados, e dá outras providências. Diário Oficial da União, 1993.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Material instrucional para capacitação em vigilância epidemiológica das hepatites virais**. Brasília, 2008.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Doenças infecciosas e parasitárias**. Guia de bolso. 8. ed. Brasília, 2010.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para hepatite viral C e coinfeções**. Brasília, 2011.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico – Hepatites Virais. Ano III - nº1**. Brasília, 2012.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Manual técnico para o diagnóstico da infecção pelo HIV**. Brasília, 2013a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV em adultos**. Brasília, 2013b.

_____. Portaria SVS/MS Nº 29 de 17 de dezembro de 2013. Aprova o Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV em Adultos e Crianças e dá outras providências. Diário Oficial da União, 2013c.

_____. Ministério da Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Ministério da Saúde estende tratamento para todos com HIV, 2013d. Disponível em: < <http://www.aids.gov.br/noticia/2013/ministerio-da-saude-estende-tratamento-para-todos-com-hiv> >. Acesso em: 11 fev. 2015.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Suplemento 1 do Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas (PCDT) para Hepatite Viral C e Coinfecções - Manejo do paciente infectado cronicamente pelo genótipo 1 do HCV e fibrose avançada**. Brasília, 2013e.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico - Aids e DST**. Ano II - nº 1 - até semana epidemiológica 26ª - dezembro de 2013. Brasília, 2013f.

_____. Ministério da Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Aids no Brasil, 2014. Disponível em: < <http://www.aids.gov.br/pagina/aids-no-brasil> >. Acesso em: 22 dez. 2014.

_____. Ministério da Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Sintomas e fases da aids, 2015. Disponível em: < <http://www.aids.gov.br/pagina/sintomas-e-fases-da-aids> >. Acesso em: 11 fev. 2015.

BRAU, N. et al. Slower fibrosis progression in HIV/HCV-coinfected patients with successful HIV suppression using antiretroviral therapy. **Journal of Hepatology**, v. 44, n. 1, p. 47-55, 2006.

BRENNAN, C. Treatment of hepatitis C virus in the coinfecting patient. **The Journal of the Association of Nurses in AIDS Care**, v. 14, n. 5 supl., p. 52S-79S, 2003.

BRUGGMANN, P. et al. Historical epidemiology of hepatitis C virus (HCV) in selected countries. **Journal of viral hepatitis**, v. 21, supl. 1, p. 5-33, 2014.

BRUNO, S. et al. Sustained virological response to interferon-alpha is associated with improved outcome in HCV-related cirrhosis: a retrospective study. **Hepatology**, v. 45, n. 3, p. 579-587, 2007.

CALZONE, K. A. et al. Relevance of genomics to healthcare and nursing practice. **Journal of Nursing Scholarship**, v. 45, n. 1, p. 1-2, 2013.

CAMPBELL-YESUFU, O. T.; GANDHI, R. T. Update on human immunodeficiency virus (HIV)-2 infection. **Clinical Infectious Diseases**, v. 52, n. 6, p. 780-787, 2011.

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, 2005.

CAPA, L. et al. Influence of HCV genotype and co-infection with human immunodeficiency virus on CD4(+) and CD8(+) T-cell responses to hepatitis C virus. **Journal of Medical Virology**, v. 79, n. 5, p. 503-510, 2007.

CARRIERI, M. P. et al. Coffee consumption and reduced self-reported side effects in HIV-HCV co-infected patients during PEG-IFN and ribavirin treatment: results from ANRS CO13 HEPAVIH. **Journal of Hepatology**, v. 56, n. 3, p. 745-747, 2012.

CASADO, J. L. et al. Regression of liver fibrosis is progressive after sustained virological response to HCV therapy in patients with hepatitis C and HIV coinfection. **Journal of Viral Hepatitis**, v. 20, n. 12, p. 829-837, 2013.

CASTELAR, L. **Polimorfismo da interleucina-18 e do interferon gama na síndrome da lipodistrofia associada à terapia anti-retroviral em portadores do HIV-1**. 2008. 106 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem Fundamental) - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

CASTELAR, L. et al. Interleukin-18 and interferon-gamma polymorphisms in Brazilian human immunodeficiency virus-1-infected patients presenting with lipodystrophy syndrome. **Tissue Antigens**, v. 76, n. 2, p. 126-130, 2010.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Kaposi's sarcoma and Pneumocystis pneumonia among homosexual men--New York City and California. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 30, n. 25, p. 305-308, 1981.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. **Morbidity and Mortality Weekly Report. Recommendations and reports**, v. 59, n. RR-12, p. 1-110, 2010.

_____. HIV/AIDS. HIV Transmission, 2014a. Disponível em: < <http://www.cdc.gov/hiv/basics/transmission.html> >. Acesso em: 22 dez. 2014.

_____. Hepatitis C FAQs for Health Professionals, 2014b. Disponível em: < <http://www.cdc.gov/hepatitis/HCV/HCVfaq.htm#section2> >. Acesso em: 22 dez. 2014.

CHARO, I. F.; RANSOHOFF, R. M. The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. **The New England Journal of Medicine**, v. 354, n. 6, p. 610-621, 2006.

CHOO, Q. L. 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, 1989.

CONLEY, Y. P. et al. Current and emerging technology approaches in genomics. **Journal of Nursing Scholarship**, v. 45, n. 1, p. 5-14, 2013.

CONSTANTINI, P. K. et al. Interleukin-1, interleukin-10 and tumour necrosis factor-alpha gene polymorphisms in hepatitis C virus infection: an investigation of the relationships with spontaneous viral clearance and response to alpha-interferon therapy. **Liver**, v. 22, n. 5, p. 404-412, 2002.

CORCHADO, S. et al. Influence of Genetic Polymorphisms of Tumor Necrosis Factor Alpha and Interleukin 10 Genes on the Risk of Liver Cirrhosis in HIV-HCV Coinfected Patients. **PLoS One**, v. 8, n. 6, p. e66619, 2013.

CORCHADO, S. et al. Liver fibrosis, host genetic and hepatitis C virus related parameters as predictive factors of response to therapy against hepatitis C virus in HIV/HCV coinfecting patients. **PLoS One**, v. 9, n. 7, p. e101760, 2014.

CORCORAN, C. P. Neuropsychiatric changes in HIV/hepatitis C coinfecting patients undergoing interferon therapy. **The Journal of the Association of Nurses in AIDS Care**, v. 14, n. 5 supl., p. 80S-86S, 2003.

CRESPO, J. et al. Plasma leptin and TNF-alpha levels in chronic hepatitis C patients and their relationship to hepatic fibrosis. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 47, n. 7, p. 1604-1610, 2002.

DAI, C. Y. et al. Polymorphisms in the interferon-gamma gene at position +874 in patients with chronic hepatitis C treated with high-dose interferon-alpha and ribavirin. **Antiviral Research**, v. 67, n. 2, p. 93-97, 2005.

DAI, C. Y. et al. Associations of tumour necrosis factor alpha promoter polymorphisms at position -308 and -238 with clinical characteristics of chronic hepatitis C. **Journal of Viral Hepatitis**, v. 13, n. 11, p. 770-774, 2006a.

DAI, C. Y. et al. Polymorphism of interferon-gamma gene at position +874 and clinical characteristics of chronic hepatitis C. **Translational Research**, v. 148, n. 3, p. 128-133, 2006b.

DAI, C. Y. et al. Tumor necrosis factor- alpha promoter polymorphism at position -308 predicts response to combination therapy in hepatitis C virus infection. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 193, n. 1, p. 98-101, 2006c.

D'ARMINIO MONFORTE, A. et al. Risk of developing specific AIDS-defining illnesses in patients coinfectd with HIV and hepatitis C virus with or without liver cirrhosis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 49, n. 4, p. 612-622, 2009.

DATA COLLECTION ON ADVERSE EVENTS OF ANTI-HIV DRUGS STUDY GROUP (D:A:D STUDY GROUP). et al. Factors associated with specific causes of death amongst HIV-positive individuals in the D:A:D Study. **AIDS**, v. 24, n. 10, p. 1537-1548, 2010a.

DATA COLLECTION ON ADVERSE EVENTS OF ANTI-HIV DRUGS STUDY GROUP (D:A:D STUDY GROUP). et al. HBV or HCV coinfections and risk of myocardial infarction in HIV-infected individuals: the D:A:D Cohort Study. **Antiviral Therapy**, v. 15, n. 8, p. 1077-1086, 2010b.

DE LEDINGHEN, V. et al. Liver fibrosis on account of chronic hepatitis C is more severe in HIV-positive than HIV-negative patients despite antiretroviral therapy. **Journal of Viral Hepatitis**, v. 15, n. 6, p. 427-433, 2008.

DEGHAIDE, N. H. S. **Polimorfismos dos genes da região do fator de necrose tumoral em pacientes com aids apresentando ou não retinite pelo citomegalovírus.** 2007. 134 f. Tese (Doutorado em Oftalmologia e Otorrinolaringologia) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

DINARELLO, C. A. IL-18: A TH1-inducing, proinflammatory cytokine and new member of the IL-1 family. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 103, n. 1 Pt 1, p. 11-24, 1999.

EUROPEAN ASSOCIATION OF THE STUDY OF THE LIVER. 2011 European Association of the Study of the Liver hepatitis C virus clinical practice guidelines. **Liver International**, v. 32, supl. 1, p. 2-8, 2012.

EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. E. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, n. 3, p. 564-567, 2010.

EXCOFFIER, L.; SLATKIN, M. Maximum-likelihood estimation of molecular haplotype frequencies in a diploid population. **Molecular Biology and Evolution**, v. 12, n. 5, p. 921-927, 1995.

FALLAHI, P. et al. Cytokines and HCV-related disorders. **Clinical & Developmental Immunology**, v. 2012, p. 468107, 2012.

FARRELL, G.; COMISKEY, C. Dualities of living with HIV/HCV co-infection: patients' perspectives from those who are ineligible for or nonresponsive to treatment. **The Journal of the Association of Nurses in AIDS Care**, v. 25, n. 1, p. 9-22, 2014.

FERREIRA, P. R. et al. The clinical effectiveness of pegylated interferon and ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C in HIV-infected patients in Brazil: a multicentric study. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 19, n. 1, p. 15-22, 2015.

FERRI, R. S.; KIRTON, C. A. Hepatitis C virus/HIV coinfection: a new challenge for nurses in AIDS care. **The Journal of the Association of Nurses in AIDS Care**, v. 14, n. 5 supl., p. 7S-17S, 2003.

FEUTH, T. et al. Complementary role of HCV and HIV in T-cell activation and exhaustion in HIV/HCV coinfection. **PLoS One**, v. 8, n. 3, p. e59302, 2013.

FOCACCIA, R.; GALANTE, C. G.; OLIVEIRA, U. B. Hepatite C. História Natural - Diagnóstico. In: **Veronesi: tratado de infectologia**. 4. ed. São Paulo: Editora Atheneu, v. 1, 2009a. cap. 22.5.4, p. 553-558.

FOCACCIA, R.; GALANTE, C. G.; OLIVEIRA, U. B. Hepatite C. Epidemiologia. In: **Veronesi: tratado de infectologia**. 4. ed. São Paulo: Editora Atheneu, v. 1, 2009b. cap. 22.5.2, p. 541-547.

FOCACCIA, R.; OLIVEIRA, U. B.; GALANTE, C. G. Hepatite C. Tratamento. In: **Veronesi: tratado de infectologia**. 4. ed. São Paulo: Editora Atheneu, v. 1, 2009. cap. 22.5.7. p. 570-576.

FORNS, X.; PURCELL, R. H.; BUKH, J. Quasispecies in viral persistence and pathogenesis of hepatitis C virus. **Trends in Microbiology**, v. 7, n. 10, p. 402-410, 1999.

FRACASSO, N. C. A. **Diversidade do gene SLC45A2 na população brasileira: associação entre SNPs e fenótipos da pigmentação**. 2014. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

FRIED, M. W. et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. **The New England Journal of Medicine**, v. 347, n. 13, p. 975-982, 2002.

FRIEDMAN, S. L. et al. Hepatic lipocytes: the principal collagen-producing cells of normal rat liver. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 82, n. 24, p. 8681-8685, 1985.

GE, D. et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. **Nature**, v. 461, n. 7262, p. 399-401, 2009.

GELENSKE, T. et al. Risk factors in human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome patients undergoing antiretroviral therapy in the state of Pernambuco, Brazil: a case-control study. **Metabolic Syndrome and Related Disorders**, v. 8, n. 3, p. 271-277, 2010.

GIEDRAITIS, V. et al. Cloning and mutation analysis of the human IL-18 promoter: a possible role of polymorphisms in expression regulation. **Journal of Neuroimmunology**, v. 112, n. 1-2, p. 146-152, 2001.

GONZALEZ, S. A. et al. Hepatic inflammatory cytokine mRNA expression in hepatitis C virus-human immunodeficiency virus co-infection. **Journal of Viral Hepatitis**, v. 15, n. 5, p. 331-338, 2008.

GOULET, J. L. et al. Relative prevalence of comorbidities and treatment contraindications in HIV-mono-infected and HIV/HCV-co-infected veterans. **AIDS**, v. 19, supl. 3, p. S99-105, 2005.

GRANDI, T. et al. Tumour necrosis factor -308 and -238 promoter polymorphisms are predictors of a null virological response in the treatment of Brazilian hepatitis C patients. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 3, p. 345-351, 2014.

GRAPHPAD SOFTWARE, I., EUA. San Diego California USA, 2003.

GUIDOTTI, L. G.; CHISARI, F. V. Noncytolytic control of viral infections by the innate and adaptive immune response. **Annual Review of Immunology**, v. 19, p. 65-91, 2001.

GUO, S. W.; THOMPSON, E. A. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. **Biometrics**, v. 48, n. 2, p. 361-372, 1992.

GURUNATHAN, S. et al. Use of predictive markers of HIV disease progression in vaccine trials. **Vaccine**, v. 27, n. 14, p. 1997-2015, 2009.

HAAS, S. L. et al. Interleukin 18 promoter variants (-137G>C and -607C>A) in patients with chronic hepatitis C: association with treatment response. **Journal of Clinical Immunology**, v. 29, n. 5, p. 620-628, 2009.

HAJEER, A. H.; HUTCHINSON, I. V. Influence of TNFalpha gene polymorphisms on TNFalpha production and disease. **Human Immunology**, v. 62, n. 11, p. 1191-1199, 2001.

HALFON, P. et al. Influence of insulin resistance on hepatic fibrosis and steatosis in hepatitis C virus (HCV) mono-infected compared with HIV-HCV co-infected patients. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 30, n. 1, p. 61-70, 2009.

HASELTINE, W. A. Molecular biology of the human immunodeficiency virus type 1. **FASEB Journal**, v. 5, n. 10, p. 2349-2360, 1991.

HEIM, M. H. Innate immunity and HCV. **Journal of Hepatology**, v. 58, n. 3, p. 564-574, 2013.

HERNANDEZ-GEA, V.; FRIEDMAN, S. L. Pathogenesis of liver fibrosis. **Annual Review of Pathology**, v. 6, p. 425-456, 2011.

HERNANDEZ, M. D.; SHERMAN, K. E. HIV/hepatitis C coinfection natural history and disease progression. **Current Opinion in HIV and AIDS**, v. 6, n. 6, p. 478-482, 2011.

HESSOL, N. A. et al. Progression of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection among homosexual men in hepatitis B vaccine trial cohorts in Amsterdam, New York City, and San Francisco, 1978-1991. **American Journal of Epidemiology**, v. 139, n. 11, p. 1077-1087, 1994.

HILL, A. V. Aspects of genetic susceptibility to human infectious diseases. **Annual Review of Genetics**, v. 40, p. 469-486, 2006.

IMRAN, M.; MANZOOR, S.; PARVAIZ, F. Predictive potential of IL-18 -607 and osteopontin -442 polymorphism in interferon-based therapy of HCV infection in the pakistani population. **Viral Immunology**, v. 27, n. 8, p. 404-411, 2014.

ISHII, S.; KOZIEL, M. J. Immune responses during acute and chronic infection with hepatitis C virus. **Clinical immunology**, v. 128, n. 2, p. 133-147, 2008.

JO, M. et al. Apoptosis induced in normal human hepatocytes by tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand. **Nature Medicine**, v. 6, n. 5, p. 564-567, 2000.

JONES, M.; NUNEZ, M. HIV and hepatitis C co-infection: the role of HAART in HIV/hepatitis C virus management. **Current Opinion in HIV and AIDS**, v. 6, n. 6, p. 546-552, 2011.

JOYCE, M. A.; TYRRELL, D. L. The cell biology of hepatitis C virus. **Microbes and Infection**, v. 12, n. 4, p. 263-271, 2010.

KAITO, M. et al. Hepatitis C virus particle detected by immunoelectron microscopic study. **The Journal of General Virology**, v. 75, p. 1755-1760, 1994.

KIM, A. Y.; CHUNG, R. T. Coinfection with HIV-1 and HCV--a one-two punch. **Gastroenterology**, v. 137, n. 3, p. 795-814, 2009.

KOHLI, A. et al. Treatment of hepatitis C: a systematic review. **JAMA**, v. 312, n. 6, p. 631-640, 2014.

KONERMAN, M. A. et al. Fibrosis progression in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus coinfecting adults: prospective analysis of 435 liver biopsy pairs. **Hepatology**, v. 59, n. 3, p. 767-775, 2014.

KOUP, R. A. et al. Temporal association of cellular immune responses with the initial control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 syndrome. **Journal of Virology**, v. 68, n. 7, p. 4650-4655, 1994.

KROEGER, K. M.; CARVILLE, K. S.; ABRAHAM, L. J. The -308 tumor necrosis factor- α promoter polymorphism effects transcription. **Molecular Immunology**, v. 34, n. 5, p. 391-399, 1997.

KUEHLKAMP, V. M.; SCHUELTER-TREVISOL, F. Prevalence of human immunodeficiency virus/hepatitis C virus co-infection in Brazil and associated factors: a review. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 4, p. 455-463, 2013.

KUNTZEN, T. et al. Intrahepatic mRNA expression in hepatitis C virus and HIV/hepatitis C virus co-infection: infiltrating cells, cytokines, and influence of HAART. **AIDS**, v. 22, n. 2, p. 203-210, 2008.

LEWDEN, C. et al. Causes of death among human immunodeficiency virus (HIV)-infected adults in the era of potent antiretroviral therapy: emerging role of hepatitis and cancers, persistent role of AIDS. **International Journal of Epidemiology**, v. 34, n. 1, p. 121-130, 2005.

LI VECCHI, V. et al. Prospective evaluation of hepatic steatosis in HIV-infected patients with or without hepatitis C virus co-infection. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 5, p. e397-402, 2012.

LI VECCHI, V. et al. Non-invasive assessment of liver steatosis and fibrosis in HIV/HCV- and HCV-infected patients. **Annals of Hepatology**, v. 12, n. 5, p. 740-748, 2013.

LIN, W. et al. HIV increases HCV replication in a TGF- β 1-dependent manner. **Gastroenterology**, v. 134, n. 3, p. 803-811, 2008.

- LIN, W.; WEINBERG, E. M.; CHUNG, R. T. Pathogenesis of accelerated fibrosis in HIV/HCV co-infection. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 207, supl. 1, p. S13-18, 2013.
- LISSEN, E. et al. Histological response to pegIFNalpha-2a (40KD) plus ribavirin in HIV-hepatitis C virus co-infection. **AIDS**, v. 20, n. 17, p. 2175-2181, 2006.
- LOKO, M. A. et al. Impact of HAART exposure and associated lipodystrophy on advanced liver fibrosis in HIV/HCV-coinfected patients. **Journal of Viral Hepatitis**, v. 18, n. 7, p. e307-314, 2011.
- LOKO, M. A. et al. Antiretroviral therapy and sustained virological response to HCV therapy are associated with slower liver fibrosis progression in HIV-HCV-coinfected patients: study from the ANRS CO 13 HEPAVIH cohort. **Antiviral Therapy**, v. 17, n. 7, p. 1335-1343, 2012.
- MACCARINI, J. L. et al. Positive serology for viral hepatitis and donor self-exclusion in Southern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 4, p. 403-410, 2013.
- MACIAS, J. et al. Fast fibrosis progression between repeated liver biopsies in patients coinfectd with human immunodeficiency virus/hepatitis C virus. **Hepatology**, v. 50, n. 4, p. 1056-1063, 2009.
- MACIAS, J. et al. Liver toxicity of initial antiretroviral drug regimens including two nucleoside analogs plus one non-nucleoside analog or one ritonavir-boosted protease inhibitor in HIV/HCV-coinfected patients. **HIV Clinical Trials**, v. 13, n. 2, p. 61-69, 2012.
- MANDORFER, M. et al. Health-related quality of life and severity of fatigue in HIV/HCV co-infected patients before, during, and after antiviral therapy with pegylated interferon plus ribavirin. **Liver International**, v. 34, n. 1, p. 69-77, 2014.
- MANOHAR, K. et al. Association of IL-18 promoter polymorphism with liver disease severity in HCV-infected patients. **Hepatology International**, v. 3, n. 2, p. 371-377, 2009.
- MARCELLIN, F. et al. Adding HCV treatment to HIV treatment in HIV-HCV coinfectd patients: the impact on the different dimensions of fatigue and self-reported side effects. **Journal of Pain and Symptom Management**, v. 34, n. 4, p. 413-421, 2007.

MARQUES, A. R.; MASUR, H. Infecção por HIV e aids. História natural. In: **Veronesi: tratado de infectologia**. 4. ed. São Paulo: Editora Atheneu, v.1, 2009. cap. 8.4. p. 161-164.

MARSH, H. P. et al. Polymorphisms in tumour necrosis factor (TNF) are associated with risk of bladder cancer and grade of tumour at presentation. **British Journal of Cancer**, v. 89, n. 6, p. 1096-1101, 2003.

MCCAUGHAN, G. W.; GEORGE, J. Fibrosis progression in chronic hepatitis C virus infection. **Gut**, v. 53, n. 3, p. 318-321, 2004.

MCGOVERN, B. H. et al. Hepatic steatosis is associated with fibrosis, nucleoside analogue use, and hepatitis C virus genotype 3 infection in HIV-seropositive patients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 43, n. 3, p. 365-372, 2006.

MELO, I. C. et al. Do differences exist between chronic hepatitis C genotypes 2 and 3? **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 2, p. 143-148, 2014.

MILLER, S. A.; DYKES, D. D.; POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Research**, v. 16, n. 3, p. 1215, 1988.

MONDELLI, M. U.; SILINI, E. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. **Journal of Hepatology**, v. 31, supl. 1, p. 65-70, 1999.

MORGAN, T. R. et al. DNA polymorphisms and response to treatment in patients with chronic hepatitis C: results from the HALT-C trial. **Journal of Hepatology**, v. 49, n. 4, p. 548-556, 2008.

NAPOLI, J. et al. Progressive liver injury in chronic hepatitis C infection correlates with increased intrahepatic expression of Th1-associated cytokines. **Hepatology**, v. 24, n. 4, p. 759-765, 1996.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH). Health & Research Topics. HIV/AIDS. Structure of HIV, 2009. Disponível em: <
<http://www.niaid.nih.gov/topics/HIVAIDS/Understanding/howHIVCausesAIDS/Pages/howhiv.aspx>>. Acesso em: 15 fev. 2015.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH). Health & Research Topics. HIV/AIDS. Prevention Research, 2013. Disponível em: <
<http://www.niaid.nih.gov/topics/hiv aids/research/prevention/Pages/default.aspx>>.
 Acesso em: 15 fev. 2015.

NAVARRO, R. M. C. **Avaliação da progressão da fibrose hepática de pacientes co-infectados pelo HIV/HCV em serviços de atendimento a pacientes com HIV/AIDS**. 2008. 145 f. (Doutorado em Doenças Infecciosas e Parasitárias) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

NEUKAM, K. et al. Liver toxicity associated with antiretroviral therapy including efavirenz or ritonavir-boosted protease inhibitors in a cohort of HIV/hepatitis C virus co-infected patients. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 66, n. 11, p. 2605-2614, 2011.

NEUMAN, M. G. et al. Kinetics of serum cytokines reflect changes in the severity of chronic hepatitis C presenting minimal fibrosis. **Journal of Viral Hepatitis**, v. 9, n. 2, p. 134-140, 2002.

NEUMANN-HAEFELIN, C. et al. T cell response in hepatitis C virus infection. **Journal of Clinical Virology**, v. 32, n. 2, p. 75-85, 2005.

NOLAN, K. F.; GREAVES, D. R.; WALDMANN, H. The human interleukin 18 gene IL18 maps to 11q22.2-q22.3, closely linked to the DRD2 gene locus and distinct from mapped IDDM loci. **Genomics**, v. 51, n. 1, p. 161-163, 1998.

OKAMURA, H. et al. Cloning of a new cytokine that induces IFN-gamma production by T cells. **Nature**, v. 378, n. 6552, p. 88-91, 1995.

PAR, G. et al. Increased baseline proinflammatory cytokine production in chronic hepatitis C patients with rapid virological response to peginterferon plus ribavirin **PLoS One**, v. 8, n. 7, p. e67770, 2013.

PASSOS, A. D. et al. Hepatitis C among former athletes: association with the use of injectable stimulants in the past. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 8, p. 809-812, 2008.

PATTON, H. M. et al. The impact of steatosis on disease progression and early and sustained treatment response in chronic hepatitis C patients. **Journal of Hepatology**, v. 40, n. 3, p. 484-490, 2004.

PEGASYS®: alfapeginterferona 2a. Responsável técnico Tatiana Tsiomis Díaz. Rio de Janeiro: Roche, 2014. Bula de remédio.

PENIN, F. et al. Structural biology of hepatitis C virus. **Hepatology**, v. 39, n. 1, p. 5-19, 2004.

PETERLIN, B. M.; TRONO, D. Hide, shield and strike back: how HIV-infected cells avoid immune eradication. **Nature Reviews. Immunology**, v. 3, n. 2, p. 97-107, 2003.

PIZZIRUSSO, M. et al. Impact of hepatitis C treatment initiation on adherence to concomitant medications. **The Journal of the Association of Nurses in AIDS Care**, v. 25, n. 1, p. 23-31, 2014.

POCIOT, F. et al. Functional analysis of a new polymorphism in the human TNF alpha gene promoter. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 42, n. 4, p. 501-504, 1995.

PONTALI, E. et al. Cytopenias during treatment of HIV-HCV-coinfection with pegylated interferon and ribavirin: safety analysis of the OPERA study. **Antiviral Therapy**, 2014. No prelo. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=PONTALI%2C+E.+et+al.+Cytopenias+during+treatment+of+HIV-HCV-coinfection+with+pegylated+interferon+and+ribavirin%3A+safety+analysis+of+the+OPERA+study.+Antivir+Ther%2C> >. Acesso em: 16 fev. 2015.

POYNARD, T. et al. Impact of pegylated interferon alfa-2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. **Gastroenterology**, v. 122, n. 5, p. 1303-1313, 2002.

POYNARD, T. et al. Peginterferon alfa-2b and ribavirin: effective in patients with hepatitis C who failed interferon alfa/ribavirin therapy. **Gastroenterology**, v. 136, n. 5, p. 1618-1628 e2, 2009.

POZZA, R. Clinical management of HIV/hepatitis C virus coinfection. **Journal of the American Academy of Nurse Practitioners**, v. 20, n. 10, p. 496-505, 2008.

PRAVICA, V. et al. A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN-gamma gene: absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN-gamma production. **Human Immunology**, v. 61, n. 9, p. 863-866, 2000.

PRINCE, A. M. et al. Long-incubation post-transfusion hepatitis without serological evidence of exposure to hepatitis-B virus. **Lancet**, v. 2, n. 7875, p. 241-246, 1974.

PROPORTION DIFFERENCE POWER/SAMPLE SIZE CALCULATION, 2009. Disponível em: < <http://statpages.org/proppowr.html> >. Acesso em: 16 fev. 2015.

QIN, Z. S.; NIU, T.; LIU, J. S. Partition-ligation-expectation-maximization algorithm for haplotype inference with single-nucleotide polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, v. 71, n. 5, p. 1242-1247, 2002.

RADWAN, M. I. et al. Influence of transforming growth factor-beta1 and tumor necrosis factor-alpha genes polymorphisms on the development of cirrhosis and hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients. **Cytokine**, v. 60, n. 1, p. 271-276, 2012.

RAHMAN, S. et al. Unique Cytokine/Chemokine Signatures for HIV-1 and HCV Mono-infection versus Co-infection as Determined by the Luminex(R) Analyses. **Journal of Clinical & Cellular Immunology**, v. 2, n. 1, p. 1-11, 2011.

RALLÓN, N. I. et al. Association of a single nucleotide polymorphism near the interleukin-28B gene with response to hepatitis C therapy in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients. **AIDS**, v. 24, n. 8, p. F23-29, 2010.

RAMADORI, G.; SAILE, B. Inflammation, damage repair, immune cells, and liver fibrosis: specific or nonspecific, this is the question. **Gastroenterology**, v. 127, n. 3, p. 997-1000, 2004.

RODRIGUEZ-GUARDADO, A. et al. Hepatitis C virus in patients with HIV infection and lipodystrophy. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 32, n. 3, p. 348-349, 2003.

ROE, B.; HALL, W. W. Cellular and molecular interactions in coinfection with hepatitis C virus and human immunodeficiency virus. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, v. 10, n. 30, p. 1-19, 2008.

ROSEN, H. R. et al. Frequencies of HCV-specific effector CD4+ T cells by flow cytometry: correlation with clinical disease stages. **Hepatology**, v. 35, n. 1, p. 190-198, 2002a.

ROSEN, H. R. et al. Tumor necrosis factor genetic polymorphisms and response to antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 97, n. 3, p. 714-720, 2002b.

RUBBIA-BRANDT, L. et al. Liver steatosis in chronic hepatitis C: a morphological sign suggesting infection with HCV genotype 3. **Histopathology**, v. 39, n. 2, p. 119-124, 2001.

SABINO, E. C.; BARRETO, C. C.; SANABANI, S. S. Infecção por HIV e aids. Etiologia e subtipos do HIV. In: **Veronesi: tratado de infectologia**. 4. ed. São Paulo: Editora Atheneu, v. 1, 2009. cap. 8.1. p. 131-137.

SAFDAR, K.; SCHIFF, E. R. Alcohol and hepatitis C. **Seminars in Liver Disease**, v. 24, n. 3, p. 305-315, 2004.

SAGNELLI, C. et al. Factors influencing liver fibrosis and necroinflammation in HIV/HCV coinfection and HCV mono-infection. **Infection**, v. 41, n. 5, p. 959-967, 2013.

SÃO PAULO. Centro de Vigilância Epidemiológica. **Boletim Epidemiológico de 23 de março de 2012**, v. 2, n. 6, 2012.

_____. Sistema de Informação de Agravos de Notificação. Centro de Vigilância Epidemiológica, 2013. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hepatite/hepac_drs.htm>. Acesso em: 15 fev. 2015.

_____. **Boletim epidemiológico**. Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Ano XXX, n. 1, 2014.

SARVARI, J. et al. The Role of Interferon Gamma Gene Polymorphism (+874A/T, +2109A/G, and -183G/T) in Response to Treatment Among Hepatitis C Infected Patients in Fars Province, Southern Iran. **Hepatitis Monthly**, v. 14, n. 1, p. e14476, 2014.

SCHEEL, T. K.; RICE, C. M. Understanding the hepatitis C virus life cycle paves the way for highly effective therapies. **Nature Medicine**, v. 19, n. 7, p. 837-849, 2013.

SCHIAVINI, M. et al. Risk factors for fibrosis progression in HIV/HCV coinfecting patients from a retrospective analysis of liver biopsies in 1985-2002. **HIV Medicine**, v. 7, n. 5, p. 331-337, 2006.

SCHIEHMANN, U. et al. Response to combination therapy with interferon alfa-2a and ribavirin in chronic hepatitis C according to a TNF-alpha promoter polymorphism. **Digestion**, v. 68, n. 1, p. 1-4, 2003.

SHARMA, A. et al. Elevation of interleukin-18 in chronic hepatitis C: implications for hepatitis C virus pathogenesis. **Immunology**, v. 128, n. 1 supl., p. e514-522, 2009.

SILVA, M. M. **Polimorfismo da região do Fator de Necrose Tumoral (TNF) na síndrome da lipodistrofia associada à terapia anti-retroviral em portadores do HIV-1**. 2008. 154 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem Fundamental) - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

SILVA, M. M. et al. TNF microsatellite alleles may confer protection against the development of lipodystrophy syndrome in Brazilian HIV patients. **International Journal of Immunogenetics**, v. 37, n. 5, p. 379-385, 2010.

SILVER, D. et al. Effect of HIV on liver fibrosis among HCV-infected African Americans. **Clinical Infectious Diseases**, v. 56, n. 9, p. 1280-1283, 2013.

SIMMONDS, P. et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. **Hepatology**, v. 42, n. 4, p. 962-973, 2005.

SITIA, G. et al. Naive HIV/HCV-coinfecting patients have higher intrahepatic pro-inflammatory cytokines than coinfecting patients treated with antiretroviral therapy. **Antiviral Therapy**, v. 11, n. 3, p. 385-389, 2006.

SOUZA, F. F. **Papel dos polimorfismos -238 A/G e -308 A/G do fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), -137 C/G e -607 C/A da interleucina-18 (IL-18), +874 A/T do interferon-gama (IFN- γ) e dos 14 pares de bases D/I do HLA-G na progressão da fibrose hepática em pacientes com hepatite C crônica**. 2011. 176 f. Tese (Doutorado em Clínica Médica) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

STEINKE, J. W.; BORISH, L. 3. Cytokines and chemokines. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 117, n. 2 supl. Mini-Primer, p. S441-445, 2006.

STEPHENS, M.; SMITH, N. J.; DONNELLY, P. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. **American Journal of Human Genetics**, v. 68, n. 4, p. 978-989, 2001.

STERLING, R. K. et al. Steatohepatitis: Risk factors and impact on disease severity in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus coinfection. **Hepatology**, v. 47, n. 4, p. 1118-1127, 2008.

STRINGARI-MURRAY, S.; CLAYTON, A.; CHANG, J. A model for integrating hepatitis C services into an HIV/AIDS program. **The Journal of the Association of Nurses in AIDS Care**, v. 14, n. 5 supl., p. 95S-107S, 2003.

SULKOWSKI, M. S. HCV therapy in HIV-infected patients. **Liver international**, v. 33, supl. 1, p. 63-67, 2013.

SULKOWSKI, M. S. et al. Combination therapy with telaprevir for chronic hepatitis C virus genotype 1 infection in patients with HIV: a randomized trial. **Annals of Internal Medicine**, v. 159, n. 2, p. 86-96, 2013a.

SULKOWSKI, M. et al. Boceprevir versus placebo with pegylated interferon alfa-2b and ribavirin for treatment of hepatitis C virus genotype 1 in patients with HIV: a randomised, double-blind, controlled phase 2 trial. **The Lancet. Infectious Diseases**, v. 13, n. 7, p. 597-605, 2013b.

TEAM, R. C. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, 2013. Disponível em: < <http://www.r-project.org/> >. Acesso em: 17 fev. 2015.

TEIXEIRA, A. C. et al. Alleles and genotypes of polymorphisms of IL-18, TNF-alpha and IFN-gamma are associated with a higher risk and severity of hepatocellular carcinoma (HCC) in Brazil. **Human Immunology**, v. 74, n. 8, p. 1024-1029, 2013.

TILG, H.; KASER, A.; MOSCHEN, A. R. How to modulate inflammatory cytokines in liver diseases. **Liver International**, v. 26, n. 9, p. 1029-1039, 2006.

TOVO, C. V. et al. Ambulatorial prevalence of hepatitis B and C markers in patients with human immunodeficiency virus infection in a general hospital. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 43, n. 2, p. 73-76, 2006.

TOVO, C. V. et al. Progression of liver fibrosis in monoinfected patients by hepatitis C virus and coinfecting by HCV and human immunodeficiency virus. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 50, n. 1, p. 19-22, 2013.

TRENT, J. M.; OLSON, S.; LAWN, R. M. Chromosomal localization of human leukocyte, fibroblast, and immune interferon genes by means of in situ hybridization. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 79, n. 24, p. 7809-7813, 1982.

TSUTSUI, H. et al. Pathophysiological roles of interleukin-18 in inflammatory liver diseases. **Immunological Reviews**, v. 174, p. 192-209, 2000.

TUGLULAR, S.; BERTHOUX, P.; BERTHOUX, F. Polymorphisms of the tumour necrosis factor alpha gene at position -308 and TNF α microsatellite in primary IgA nephropathy. **Nephrology, Dialysis, Transplantation**, v. 18, n. 4, p. 724-731, 2003.

TUYAMA, A. C. et al. Human immunodeficiency virus (HIV)-1 infects human hepatic stellate cells and promotes collagen I and monocyte chemoattractant protein-1 expression: implications for the pathogenesis of HIV/hepatitis C virus-induced liver fibrosis. **Hepatology**, v. 52, n. 2, p. 612-622, 2010.

UNAIDS. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. **The Gap report**, 2014.

USHIO, S. et al. Cloning of the cDNA for human IFN-gamma-inducing factor, expression in Escherichia coli, and studies on the biologic activities of the protein. **Journal of Immunology**, v. 156, n. 11, p. 4274-4279, 1996.

VALENTE, V. B.; COVAS, D. T.; PASSOS, A. D. Hepatitis B and C serologic markers in blood donors of the Ribeirao Preto Blood Center. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 6, p. 488-492, 2005.

VALI, B. et al. HIV-specific T-cells accumulate in the liver in HCV/HIV co-infection. **PLoS One**, v. 3, n. 10, p. e3454, 2008.

VIDIGAL, P. G.; GERMER, J. J.; ZEIN, N. N. Polymorphisms in the interleukin-10, tumor necrosis factor-alpha, and transforming growth factor-beta1 genes in chronic hepatitis C patients treated with interferon and ribavirin. **Journal of Hepatology**, v. 36, n. 2, p. 271-277, 2002.

VLAHAKIS, S. R. et al. Human immunodeficiency virus-induced apoptosis of human hepatocytes via CXCR4. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 188, n. 10, p. 1455-1460, 2003.

WEBER, R. et al. Liver-related deaths in persons infected with the human immunodeficiency virus: the D:A:D study. **Archives of Internal Medicine**, v. 166, n. 15, p. 1632-1641, 2006.

WEISS, J. J.; MORGELLO, S. Psychiatric management of HIV/HCV-coinfected patients beginning treatment for hepatitis C virus infection: survey of provider practices. **General Hospital Psychiatry**, v. 31, n. 6, p. 531-537, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Consolidated guidelines on general HIV care and the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection: recommendations for a public health approach. Geneva, 2013.

_____. Health topics. HIV/AIDS, 2014a. Disponível em: < http://www.who.int/topics/hiv_aids/en/ >. Acesso em: 22 dez. 2014.

_____. Hepatitis C. Fact sheet N°164, 2014b. Disponível em: < <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/index.html> >. Acesso em: 22 dez. 2014.

_____. Global Health Observatory (GHO) data. Mean Body Mass Index (BMI), 2015. Disponível em: < http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/bmi_text/en/ >. Acesso em: 17 fev. 2015.

YEE, L. J. et al. Tumor necrosis factor gene polymorphisms in patients with cirrhosis from chronic hepatitis C virus infection. **Genes and Immunity**, v. 1, n. 6, p. 386-390, 2000.

YEE, L. J. et al. Interleukin 10 polymorphisms as predictors of sustained response in antiviral therapy for chronic hepatitis C infection. **Hepatology**, v. 33, n. 3, p. 708-712, 2001.

YONEDA, S. et al. Association of serum cytokine levels with treatment response to pegylated interferon and ribavirin therapy in genotype 1 chronic hepatitis C patients. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 203, n. 8, p. 1087-1095, 2011.

YU, M. L. et al. Tumor necrosis factor alpha promoter polymorphisms at position -308 in Taiwanese chronic hepatitis C patients treated with interferon-alpha. **Antiviral Research**, v. 59, n. 1, p. 35-40, 2003.

ZHANG, L. et al. Role of Th1/Th2 cytokines in serum on the pathogenesis of chronic hepatitis C and the outcome of interferon therapy. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 4, p. 9747-9755, 2014.

ZHANG, Y. et al. The effect of cytokine profiles on the viral response to re-treatment in antiviral-experienced patients with chronic hepatitis C virus infection. **Antiviral Research**, v. 92, n. 2, p. 247-254, 2011.

ZOCRATTO, K. B. et al. HCV and HIV infection and co-infection: injecting drug use and sexual behavior, AJUDE-Brasil I Project. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n. 4, p. 839-848, 2006.

Apêndices

APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

As pessoas portadoras da infecção pelo HIV e pelo vírus da hepatite C ao mesmo tempo apresentam uma maior dificuldade no controle das duas doenças, o que contribui para que lesões no fígado aconteçam de forma muito rápida e para que o tratamento do HIV seja mais delicado.

Por esse motivo, estamos fazendo um estudo chamado “Polimorfismo de citocinas e do HLA-G na coinfeção HIV/HCV”. Nessa pesquisa, tentaremos identificar alguns fatores genéticos que possam estar associados com o rápido desenvolvimento de lesões no fígado de pessoas com HIV que também possuem o vírus da hepatite C e comparar com aquelas que possuem somente a infecção pelo HIV ou hepatite C e as pessoas saudáveis. Assim, gostaríamos de lhe convidar para participar desse estudo. Se você aceitar, peço autorização para utilizar o seu DNA que já foi colhido como rotina do tratamento do hospital e utilizado em estudo anterior e que encontra-se armazenado no laboratório. Precisarei coletar também alguns dados a respeito de sua saúde e seus exames no seu prontuário médico.

Você não é obrigado a participar deste estudo e tem a liberdade de não participar; caso isto ocorra, o atendimento neste hospital continuará ocorrendo da mesma forma. Você não gastará e nem ganhará nenhum dinheiro para participar deste estudo. Terá como possíveis benefícios pela participação a possibilidade de identificação de alguns fatores genéticos para melhor entendimento dos mecanismos que possam estar associados com o rápido desenvolvimento de lesões no fígado, além de poder contribuir para o avanço da ciência nessa área para melhorar o atendimento dos pacientes. Os resultados desse trabalho serão publicados em revistas científicas e congressos e estarão garantidos o sigilo e anonimato do seu nome.

Assim, eu _____, RG _____, abaixo assinado, após ter recebido as informações da pesquisadora, concordo em participar dessa pesquisa, tendo garantido os meus direitos abaixo relacionados:

- Direito de receber resposta a qualquer pergunta ou dúvida sobre o tema;
- Direito de deixar de participar da pesquisa a qualquer momento, sem prejuízo atual e futuro à minha assistência;
- Direito de não ser identificado e ter minha privacidade preservada.

Esclareço que em caso de dúvida, fui orientado a procurar a Profa. Dra. Ana Paula Moraes Fernandes na Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto – USP, local de seu trabalho, no horário das 8:00 às 17:00h, de segunda a sexta-feira. Endereço: Av. dos Bandeirantes, 3900 - Ribeirão Preto, SP. Telefone: 16- 3602-3459.

Declaro que tenho conhecimento dos direitos acima descritos e consinto em participar deste estudo realizado pela pesquisadora que subscreve este termo de consentimento. Esse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será assinado em duas vias, e receberei uma delas.

De acordo, _____, Ribeirão Preto, _____ de _____ de 2013.

Assinatura do participante do estudo

Assinatura da pesquisadora

APÊNDICE B – Instrumento para coleta dos dados pessoais, clínicos, laboratoriais e das biópsias hepáticas

Paciente número _____

Data: / /

Dados pessoais:

Registro HC: _____

DN: _____ Cor da pele: _____ Sexo: _____

Peso: _____ Altura: _____ IMC: _____

Dados da infecção pelo HIV:

Tempo de diagnóstico do HIV: _____

Possível modo de aquisição do HIV: _____

Modo de descoberta da infecção pelo HIV: _____

Tempo de tratamento com ARV: _____

Carga viral do HIV pré-tratamento da hepatite C: _____

Número de linfócitos T CD4⁺ pré-tratamento da hepatite C: _____

Carga viral do HIV atual: _____

Número de linfócitos T CD4⁺ atual: _____

Número de linfócitos T CD8⁺ atual: _____

ARV em uso: _____

Dados da infecção pelo HCV:

Tempo de diagnóstico do HCV: _____

Possível modo de aquisição do HCV: _____

Modo de descoberta da infecção pelo HCV: _____

Tempo de seguimento no ambulatório de hepatites: _____

Carga viral do HCV pré-tratamento: _____

Genótipo do HCV: _____

Resposta ao tratamento da hepatite C: _____

Medicamentos utilizados para o tratamento da hepatite C: _____

Reações adversas ao tratamento da hepatite C: _____

Uso de medicamento contra as reações adversas: _____

Outras informações importantes:

Presença de outros problemas de saúde (1) Sim (2) Não

Qual(is): _____

Ingestão de álcool: _____

Exames laboratoriais:

Gama-glutamilttransferase (GGT): _____

Aspartato aminotransferase (AST): _____

Alanina aminotransferase (ALT): _____

Colesterol total: _____

Triglicérides: _____

TSH: _____

Glicemia: _____

Albumina: _____

Bilirrubina total: _____

Bilirrubina direta: _____

Bilirrubina indireta: _____

Plaquetas: _____

International normalized ratio (INR): _____

Alfafetoproteína: _____

Biópsia:

Nº da biópsia: _____

Idade do paciente na biópsia: _____

METAVIR:

A0 ()

A1 ()

A2 ()

A3 ()

F0 ()

F1 ()

F2 ()

F3 ()

F4 ()

Presença de cirrose (1) Sim (2) Não

Anexos

ANEXOS

ANEXO A - Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da EERP

Centro Colaborador da Organização Mundial da Saúde
para o Desenvolvimento da Pesquisa em Enfermagem

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO

Avenida Bandeirantes, 3900 - Ribeirão Preto - São Paulo - Brasil - CEP 14040-902
Fone: 55 16 3602.3382 - 55 16 3602.3381 - Fax: 55 16 3602.0518
www.eerp.usp.br - eerp@edu.usp.br

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA EERP/USP

Of.CEP-EERP/USP – 200/2011

Ribeirão Preto, 15 de junho de 2011.

Prezada Senhora,

Comunicamos que o projeto de pesquisa, abaixo especificado, foi analisado e considerado **APROVADO** pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, em sua 139ª Reunião Ordinária, realizada em 15 de junho de 2011.

Protocolo: nº 1324/2011

Projeto: Polimorfismo de citocinas e do HLA-G na coinfeção HIV/HCV..

Pesquisadores: Ana Paula Moraes Fernades
Luciana Castelar Tsuda

Em atendimento à Resolução 196/96, deverá ser encaminhado ao CEP o relatório final da pesquisa e a publicação de seus resultados, para acompanhamento, bem como comunicada qualquer intercorrência ou a sua interrupção.

Atenciosamente,

Enfª Maria Antonieta Spinoso Prado
Vice-Coordenadora do CEP-EERP/USP

Ilma. Sra.

Profª. Drª. Ana Paula Moraes Fernades

Departamento de Enfermagem Geral e Especializada
Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto - USP

ANEXO B - Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMRP-USP

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

www.hcrp.fmrp.usp.br

Ribeirão Preto, 08 de agosto de 2011

Projeto de pesquisa: "POLIMORFISMO DE CITOCINAS E DO HLA-G NA COINFECÇÃO HIV/HCV".

Pesquisadoras responsáveis: Profª Drª Ana Paula Moraes Fernandes/ Luciana Castelar Tsuda/ Carolina Meneguetti (Aluna de Graduação da EERP-USP).

Instituição Proponente: Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto-USP.

"O CEP do HC e da FMRP-USP concorda com o parecer ético emitido pelo CEP da Instituição Proponente, que cumpre as Resoluções Éticas Brasileiras, em especial a Resolução CNS 196/96. Diante disso, o HCFMRP-USP, como instituição co-participante do referido projeto de pesquisa, está ciente de suas co-responsabilidades e de seu compromisso no resguardo da segurança e bem-estar dos sujeitos desta pesquisa, dispondo de infra-estrutura necessária para a garantia de tal segurança e bem-estar".

Ciente e de acordo:

Drª Marcia Guimarães Villanova
Coordenadora do Comitê de Ética
em Pesquisa - HCFMRP-USP

Prof. Dr. Eduardo Barbosa Coelho
Coordenador da Unidade de Pesquisa
Clínica – UPC - HCFMRP-USP

**ANEXO C - Parecer de aprovação do Banco de Amostra Biológica do
Departamento de Clínica Médica – Divisão de Gastroenterologia do HCFMRP-
USP**

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

CAMPUS UNIVERSITÁRIO - MONTE ALEGRE
FONE: 602-1000 - FAX (016) 633-1144

Ribeirão Preto, 26 de maio de 2004

Ofício nº 1540/2004
CEP/SPC

Senhora Professora:

O Comitê de Ética em Pesquisa recebeu carta, onde Vossa Senhoria encaminha a proposta de reconhecimento e de criação do Banco de Amostra Biológica do Departamento de Clínica Médica – Divisão de Gastroenterologia do HCFMRP-USP.

Sobre o assunto, o Comitê de Ética em Pesquisa em sua 180ª Reunião Ordinária realizada em 24.05.2004, analisou a proposta de criação e a enquadrando na categoria: **APROVADO**, de acordo com o Processo HCRP nº 3416/2003.

Aproveito a oportunidade para apresentar a Vossa Senhoria protestos de estima e consideração.

PROF. DR. SÉRGIO PEREIRA DA CUNHA
Coordenador do Comitê de Ética
em Pesquisa do HCFMRP-USP e da FMRP-USP

Ilustríssima Senhora
PROFª DRª ANA DE LOURDES CANDOLO MARTINELLI
Dento. de Clínica Médica

ANEXO D - Parecer de aprovação do BANPI do HCFMRP-USP

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

www.hcrp.fmrp.usp.br

Ribeirão Preto, 09 de outubro de 2007

Ofício nº 3520/2007
CEP/MGV

PROCESSO HCRP nº 7581/2007

Prezado Professor,

O Comitê de Ética em Pesquisa em sua 256ª Reunião Ordinária realizada em 08.10.2007, recebeu a "Proposta de criação do banco de amostras do núcleo de pesquisa em imunogenética (BANPI)" e a enquadrou na categoria: **APROVADO**, **bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.**

Atenciosamente.

DRª MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
Vice-Coordenadora do Comitê de Ética
em Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimo Senhor
PROF. DR. EDUARDO ANTONIO DONADI
Depto. de Clínica Médica – Laboratório de Imunologia Molecular