



Relato de Caso/Case Report

Resposta virológica sustentada em pacientes com co-infecção pelos genótipos 1 e 2 do vírus da hepatite C, com apenas nove semanas de terapêutica antiviral: relato de caso

Sustained virological response in patients with coinfection by hepatitis C virus genotypes 1 and 2, after just nine weeks of antiviral therapy: case report

Ana Ruth Araújo^{1,2}, José Eduardo Levi⁴, Carlos Maurício de Almeida¹, Tatiane Amábili de Lima^{1,3}, Laura Patrícia Viana Maia^{2,3}, Kátia Luz Torres³, Andréa Monteiro Tarragô³, Flamir Victória¹, Marilu Victória¹, Sinésio Talhari¹ e Adriana Malheiro^{2,3}

RESUMO

Relata-se um paciente do sexo masculino com 67 anos e sorologia positiva para o vírus da hepatite C (HCV). Exames moleculares revelaram a presença do RNA do HCV, com carga viral de 2.000 cópias/mL e genótipos 1 e 2. O tratamento foi com alfapéginterferon-2a, 180mcg/semana e ribavirina, 1.000mg/dia. Na quarta semana de tratamento, a carga viral para o HCV era indetectável. Na nona semana, o paciente apresentou hematêmese, piora do quadro de astenia, inapetência e comprometimento do estado geral, quando o tratamento foi descontinuado. O PCR foi negativo após 6 meses e permaneceu assim após um ano. O paciente encontra-se assintomático.

Palavras-chaves: Vírus da hepatite C. Co-infecção. SRV.

ABSTRACT

A report of a 67 year-old male patient with positive serology for HCV. PCR revealed the presence of HCV RNA, viral load of 2,000 copies/mL and genotypes 1 and 2. The patient was treated with peginterferon alfa-2a at 180mcg/week and ribavirin at 1,000mg/day. In week four of treatment, HCV viral load was undetectable. In week nine, the patient developed hematemesis, worsening of asthenia, anorexia and impaired general condition, so the treatment was discontinued. The PCR was negative six months and one year after the cessation of treatment. The patient remains asymptomatic.

Key-words: Hepatite C virus. Co-infection. SRV.

RELATO DO CASO

Paciente do sexo masculino, com 67 anos de idade, caucasiano, procedente de Manaus, Estado do Amazonas que utilizava *glucanergan* há 40 anos e negava o uso de álcool ou outras drogas. Não havia histórico de transfusões sanguíneas. Queixava-se de astenia, gosto amargo na boca e gases.

Os exames apresentaram os seguintes resultados (Hto 36,8, Hb 12,4, plaquetas 113.000, leucócitos 3.900, ALT 99, alfa-feto proteína 3,3). A ultrassonografia revelou fígado com aspecto normal. As sorologias confirmatórias revelaram positividade para anti-HCV, sendo negativas para (HBsAg, anti-HBc, anti-HBs). Os exames de biologia molecular revelaram a presença do RNA do HCV, com carga viral de 2.000 cópias/mL e através da análise filogenética, concluiu-se que o paciente apresentava os genótipos 1 e 2. Esta etapa do trabalho foi realizada no Laboratório de virologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (IMT-SP) sob responsabilidade do Dr. José Eduardo Levi. A extração do RNA das amostras foi realizada a partir de 140µL de soro utilizando-se o Kit QIAamp[®] viral RNA (Qiagen, Uniscience do Brasil-SP), de acordo com as especificações do fabricante. Para a síntese de DNA complementar (cDNA) foi realizada a reação de transcrição reversa (RT), utilizando-se a enzima transcriptase reversa Moloney Murine Leukemia Vírus (M-MLV) (Invitrogen[®] Brasil) que utiliza moléculas de RNA fita simples, na presença de *Random Hexamers N6* (*Random primers*) para sintetizar fitas de DNA e a reação foi submetida às condições de termociclagem. Após a obtenção do cDNA, o mesmo foi amplificado pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando-se a enzima Platinum Taq DNA polimerase (Invitrogen[®] TM Life Technologies, Carlsbad, CA, USA). Os *primers* foram desenhados a partir da região conservada 5'NCR do genoma do HCV. O Produto amplificado foi identificado por eletroforese em gel de agarose 1,5% (agarose ultrapure[™] - Invitrogen Life Technologies). A amostra do paciente continha RNA do HCV no plasma e foi submetida a nova reação em cadeia da polimerase que gerou um produto amplificado de 308pb ideal para análise dos genótipos do HCV. O sequenciamento do HCV foi realizado no sequenciador ABI PRISM TM 377 Applied Biosystems Incorporation, Foster City, California, EUA. O alinhamento das sequências foi realizado utilizando-se o software ABI 377-96 collection v. 2.6. A genotipagem foi feita através da edição e alinhamento das sequências das regiões 5'NCR, utilizando

INTRODUÇÃO

A infecção pelo HCV está estimada em mais de 200 milhões de pessoas em todo o mundo, correspondendo a mais de 3% de toda a população mundial¹. É um vírus emergente e constitui significativa causa de morbimortalidade humana². Desta forma, constitui um grave problema de saúde pública. O objetivo deste trabalho é relatar sobre um paciente atendido na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas.

1. Fundação de Medicina Tropical do Amazonas, Manaus, AM. 2. Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM. 3. Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas, Manaus, AM. 4. Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, São Paulo, SP.

Endereço para correspondência: Dra. Adriana Malheiro. HEMOAM. Av. Constantino Nery 4397, 69050-002 Manaus, AM.

Tel: 55 92 3655-0113

e-mail: malheiroadriana@yahoo.com.br

Recebido para publicação em 08/04/2010

Aceito em 12/05/2010

o programa *Sequence Navigator* v.3.4 (Applied Biosystems), em conjunto com as sequências padrão obtidas do GenBank, (acesso online) no banco de dados do Los Alamos *National Laboratory* nos Estados Unidos. A carga viral foi determinada por meio da quantificação do RNA viral pela técnica de amplificação de ácidos nucleicos, através do Kit Amplicor HCVTM Test (Roche).

O paciente iniciou o tratamento com alfa peginterferona-2a (40KD), 180mcg/semana, associada a ribavirina, 1.000mg/dia, conforme protocolo do Ministério da Saúde para tratamento do HCV genótipo 1. Na segunda semana, após o início do tratamento, observou-se queda discreta do hematócrito, hemoglobina, plaquetas e leucócitos. A partir da quarta semana de tratamento, o paciente passou a apresentar astenia, anorexia e perda de peso, com queda progressiva do hematócrito, hemoglobina, plaquetas e leucócitos. Na quarta semana de tratamento, a carga viral para o HCV era indetectável (<200 cópias/ml) e valores alterados de ALT= 82UI/L e AST= 73UI/L.

Nanona semana de tratamento, o paciente apresentou hematêmese, piora do quadro de astenia, inapetência e comprometimento do estado geral. Foi internado no Serviço de Pronto Atendimento da Fundação de Medicina Tropical do Amazonas, com quadro de pancitopenia. Na internação, apresentava hemoglobina-3,7 hematócrito-11,8, plaquetas-22.000, leucócitos-1.500, AST-73, ALT-82. O paciente recebeu 4 unidades de concentrado de plaquetas e 4 unidades de concentrado de hemácias. O tratamento preconizado inicialmente (interferon associado à ribavirina) foi descontinuado e fez-se hemograma, bioquímica, nova carga viral e ressonância magnética (RNM).

A carga viral permanecia inferior ao limite de detecção e as enzimas hepáticas estavam normais. A RNM revelou sinais de hepatopatia crônica. A endoscopia digestiva alta revelou presença de dois cordões varicosos de fino calibre em segmento distal, sugerindo quadro de hipertensão portal por doença hepática crônica.

Após seis meses da suspensão do tratamento, o paciente estava assintomático. Os resultados dos novos exames demonstraram: Hto-33,8, Hb-11,6, plaquetas-100.000, TAP-70,7% e ALT-58. O PCR qualitativo, seis meses após a suspensão do tratamento foi negativo e permaneceu assim após um ano. O paciente encontra-se assintomático, com perfil bioquímico dentro dos parâmetros de normalidade.

DISCUSSÃO

O HCV é um vírus emergente¹ em todo o mundo e constitui significativa causa de morbimortalidade humana². O HCV é o único representante do gênero *Hepacivirus*, incluído na família *Flaviviridae*. É um pequeno vírus, com 30 a 60 nm de diâmetro, e apresentando um genoma de RNA linear, com hélice única e positiva, cuja organização assemelha-se a de outros flavivírus, como o vírus do dengue³.

Até o momento, foram identificados 6 genótipos de HCV, distintos mas relacionados, além de múltiplos subtipos, por meio de correlações moleculares⁴: 1a, 1b, 2a, 2b, 3, 4, 5 e 6. A determinação do genótipo relacionado a cada indivíduo é importante por apresentar valor preditivo em termos de resposta à terapia antiviral, com melhor resposta associada aos genótipos 2 e 3 do que ao genótipo 1⁴. Como relatado neste trabalho, observamos que o paciente apresentava infecção por dois diferentes genótipos 1 e 2 do HCV. Este fato explica-se porque como ocorre com todos os RNA-vírus, falta à polimerase

do HCV, uma função de leitura de prova (*proof-reading function*). Isto permite que, no curso de infecção persistente, a replicação viral propense a erros gere um repertório de variantes virais altamente relacionadas, mas geneticamente distintas, ou *quasispécies*. Esta variabilidade genética concede ao HCV um notável potencial adaptativo, tendo sido implicado com a evasão e controle da resposta do hospedeiro à infecção e a uma sensibilidade diferencial à terapia com Interferon⁵. Além disso, trabalhos recentes do nosso grupo demonstraram que o genótipo 1 do HCV é o de maior prevalência no Estado do Amazonas, seguido dos genótipos 2 e 3⁶, podendo sugerir ainda que este paciente tenha tido contato com ambos os genótipos dos vírus.

O tratamento da hepatite C visa deter a progressão da doença hepática pela inibição da replicação viral⁷. O protocolo terapêutico do Ministério da Saúde preconiza a administração de interferon alfa em associação com a *ribavirina*, variando o tempo de tratamento de acordo com o genótipo do HCV. Considerando que o genótipo 1 tem sido descrito como o que apresenta pior resposta à terapia, o Ministério da Saúde, preconiza, nestes casos, um tratamento mais prolongado, com interferon peguilado. Desta forma, optou-se por tratar o paciente considerando o genótipo 1.

Tem sido sistematicamente descrita uma correlação entre o genótipo viral e a resposta terapêutica. Dados da literatura indicam que para os genótipos 2 e 3 o IFN- γ em combinação com a ribavirina são eficazes em 80% dos casos. Tempo inferior a 12 semanas de interferon-gama e ribavirina seria tão eficaz quanto um esquema de 24 semanas⁸. Estes dados evidenciam que o tratamento pode ser mais ou menos eficaz de acordo com o genótipo viral encontrado, sendo a resposta clínica melhor com os genótipos tipos 2 e 3 quando comparada aos genótipos 1a e 1b, como exposto anteriormente.

Surpreendentemente, após quatro semanas de tratamento, o paciente relatado apresentou carga viral indetectável, sugerindo que o mesmo seria bom respondedor ao tratamento, mesmo apresentando a co-infecção com os genótipos 1 e 2. Estes dados estão de acordo com a literatura. Alguns autores relatam que um percentual de pacientes tratados com interferon e ribavirina que apresenta resposta virológica na 4ª semana de tratamento, têm maior probabilidade de manter a resposta virológica sustentada (PCR qualitativo negativo após 6 meses de suspensão do tratamento)⁹. Por outro lado, dados de estudo realizado na China com 40 pacientes com hepatite C crônica, submetidos a terapia com IFN- γ e ribavirina por 48 semanas, tiveram resposta viral sustentada; dentre estes, 28% a 31% apresentavam genótipo 1 e 64% a 66% genótipos 2 ou 3¹⁰.

Após a 4ª semana, apesar da boa resposta do paciente ao tratamento foram observadas alterações laboratoriais. Houve queda do hematócrito, hemoglobina e quadro de anemia severa, com diminuição de leucócitos e plaquetas, havendo hemorragia digestiva e comprometimento do estado geral do paciente. O tratamento foi descontinuado na nona semana face à pancitopenia e comprometimento do estado geral do paciente.

Todas as manifestações e alterações laboratoriais parecem estar relacionado aos efeitos colaterais ocasionados pelo interferon peguilado, associado a ribavirina. Em 2010, Rumi e cols¹⁰, observaram que o tratamento com interferon associado a ribavirina pode causar pancitopenia, anemia grave e hemorragias digestivas. Estes autores sugeriram que este quadro pode estar associado ao tipo de interferon peguilado utilizado e o genótipo do HCV. Sendo que nestas situações é indicado descontinuar o tratamento, até que haja melhora do paciente.

No presente estudo, o tratamento foi eficaz, mesmo sendo descontinuado na nona semana após seu início, uma vez que manteve RVS no controle de 6 e 12 meses após a suspensão do tratamento e até o momento apresenta-se assintomático, com concentrações normais das transaminases. A RNM mostrou fígado de aspecto normal, sugerindo que o tratamento foi eficaz neste paciente, tanto para o genótipo 1, como para o 2.

SUPORTE FINÂNCIEIRO

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) e Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq).

REFERÊNCIAS

1. Pavio N, Lai MMC. The hepatitis C virus persistence: how to evade the immune system? *J Biosci* 2003; 28:287-304.
2. Bowen DG, Walker CM. Adaptive immune responses in acute and chronic hepatitis C virus infection. *Nature* 2005; 436:946-952.
3. Houghton M, Weiner A, Han J, Kuo G, Choo QL. Molecular biology of the hepatitis C viruses: implications for diagnosis, development and control of viral disease. *Hepatology* 1991; 14:381-388.
4. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2001; 345:41-52.
5. Galé-Jr M, Foy EM. Evasion of intracellular host defence by hepatitis C virus. *Nature* 2005; 436:939-945.
6. Torres KL, Malheiro A, Tateno A, Lima TA, Mia LPV, Pimentel JPD, et al. Hepatitis C virus in blood donors, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2009; 15:676-678.
7. Strauss E. Hepatite C. *Rev Soc Bras Med Trop* 2001; 24:69-82.
8. Brasil. Programa Nacional de Hepatites Virais (PNHV), 2006. Disponível em: www.saude.gov.br/porta/saude. Acessado em 15 de fevereiro de 2010.
9. Mangia A, Santoro R, Minerva N, Ricci GL, Carretta V, Persico M, et al. Peginterferon Alfa-2b and Ribavirin for 12 vs. 24 weeks in HCV genotype 2 or 3. *N Engl J Med* 2005; 352:2609-2617.
10. Rumi M, Aghemo A, Prati GM, D'Ambrosio R, Donato MF, Soffredini R, et al. Randomized Study of Peginterferon-± 2a Plus Ribavirin Versus Peginterferon-± 2b Plus Ribavirin in Chronic Hepatitis C. *Gastroenterology* 2010; 138: 108-115.