

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DE PORTO ALEGRE – UFCSPA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM HEPATOLOGIA**

Giórgia de Souza Marasca

**Frequência do polimorfismo C3435T
(rs1045642) do gene *MDR1* em pacientes
coinfetados HCV-HIV**

UFCSPA

**Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre**

**Porto Alegre
2015**

Giórgia de Souza Marasca

**Frequência do polimorfismo C3435T
(rs1045642) do gene *MDR1* em pacientes
coinfectedados HCV-HIV**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Hepatologia da Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Dra. Ana Beatriz Gorini da Veiga
Co-orientador: Dr. Néelson Alexandre Kretzmann Filho

**Porto Alegre
2015**

Catálogo na Publicação

de Souza Marasca, Giórgia
Frequência do polimorfismo C3435T (rs1045642) do gene
MDR1 em pacientes coinfectados HCV-HIV / Giórgia de
Souza Marasca. -- 2015.
42 p. : graf., tab. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de
Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de
Pós-Graduação em Medicina: Hepatologia, 2015.

Orientador(a): Ana Beatriz Gorini da Veiga ;
coorientador(a): Néelson Alexandre Kretzmann Filho.

1. Coinfecção HCV-HIV. 2. Polimorfismo de nucleotídeo
único. 3. Gene de resistência a múltiplas drogas.. I.
Título.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados
fornecidos pelo(a) autor(a).

Giórgia de Souza Marasca

**Frequência do polimorfismo C3435T rs1045642 do gene *MDR1* em pacientes
coinfectados HCV-HIV**

Dissertação de Mestrado submetida à Comissão Julgadora do Programa de Pós-Graduação em Hepatologia da Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Hepatologia. Área de Concentração: Hepatologia.

Banca Examinadora:

Data de Aprovação: ___ / ___ / ____.

Porto Alegre
2015

Dedico a DEUS, a minha mãe e a toda a minha família. Essa dissertação é o resultado de uma longa etapa. Um desafio, uma vitória sonhada, almejada e enfim alcançada. Sou grata ao amor, carinho, orações e motivação que sempre dedicaram a mim.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, **Gilmar Marasca** e **Áurea de Souza Silva**, por todo amor, carinho e educação, e em especial a minha mãe, a qual sempre se manteve ao meu lado, me encorajando, corrigindo e principalmente compreendendo a minha ausência frequente. Vocês são as pessoas mais importantes, obrigada por tudo.

À minha orientadora, **Dr^a Ana Beatriz Gorini da Veiga**, por ter me recebido e acolhido com tanto carinho. Ao incentivo, às correções, às motivações, aos conselhos prestados e por confiar em minha capacidade.

Ao meu co-orientador, **Dr. Néelson Alexandre Kretzmann Filho**, por compartilhar comigo seus conhecimentos, ter a paciência e disponibilidade com meus horários alternativos. Por ajudar a me tornar uma profissional que sou hoje, muito obrigado.

Ao professor **Dr. Angelo Alves de Mattos**, pelo estímulo, tranquilidade e pelos valiosos ensinamentos oferecidos ao longo deste trabalho.

À Professora **Dr^a Cristiane Valle Tovo**, aos médicos infectologistas **Dimas Alexandre Kliemann** e **André Luiz Machado da Silva**, pelo apoio na pesquisa, seleção dos pacientes e coleta das amostras.

Aos meus **Pastores**, pela cobertura espiritual, ensinamentos, aos líderes, em especial a **Rogério** e **Luciane Marks**, pelo acolhimento, ajuda, e principalmente por todo apoio nos momentos difíceis e de ausência.

À **Thalise Alves do Nascimento**, primeiramente pela amizade e companheirismo, sou grata a Deus por colocar você em minha vida, obrigado de coração por TODOS os ensinamentos. Você é e sempre será a Best.

Às técnicas do laboratório de Biologia Molecular, **Magda e Grasiela**, pelo auxílio nas atividades laboratoriais, e principalmente à **Grasiela Agnes** pelas inúmeras consultorias técnicas.

A todo pessoal da Igreja Caminho Santo (ICS) pelos momentos de descontração, e em especial a **Rodrigo e Thais Romanini**, pela amizade e parceria de tantos anos.

A todas as colegas e amigos, que de alguma forma me ajudaram e contribuíram para o sucesso desta conquista. Em especial à **Adaliany Cecilia da Silva Souza**, pelo companheirismo.

À **Sr^a Luciani Spencer**, secretária do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Hepatologia, pessoa amável, sempre atenciosa e solícita.

À toda equipe do Serviço de Infectologia do Hospital Conceição pela ajuda e acolhimento, em especial à secretária **Roberta**, pela ajuda com as agendas e consultórios, a bolsista **Barbara** pelo auxílio com os prontuários e à **Enfermeira Lurdes** pela ajuda nas coletas, muito obrigado.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Medicina: Hepatologia** e aos seus **coordenadores**, por possibilitarem a realização do experimento.

À **Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre**, que me proporcionou a realização de um curso de Pós-Graduação de reconhecida qualidade.

RESUMO

Introdução: Devido à alta prevalência de coinfectados pelos vírus HCV e HIV e às inúmeras complicações que estes apresentam torna-se fundamental que se consiga um maior entendimento do comportamento biológico dos mesmos. Estudos apontam que a resposta ao tratamento pode estar relacionada à resistência aos medicamentos utilizados. O polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) C3435T do gene de resistência a múltiplas drogas *MDRI*, no qual ocorre modificação do códon ATC para ATT, parece estar relacionado à resposta ao tratamento com uso de fármacos em diversas doenças. **Objetivo:** Mapear o polimorfismo C3435T do gene *MDRI* em paciente coinfectados pelos vírus HCV-HIV e correlacionar sua distribuição com a resposta ao tratamento da hepatite C. **Metodologia:** Foram analisados 98 pacientes com diagnóstico de infecção HCV-HIV no período de janeiro a dezembro de 2013. Foram avaliados os fatores de risco para aquisição dos vírus, resposta ao tratamento da hepatite C e a identificação molecular do polimorfismo do gene *MDRI* foi determinado pela técnica de PCR Real Time (qPCR) alelo-específico com *primers* e sondas específicos para a identificação do polimorfismo. **Resultados:** Dos pacientes avaliados, 53 (54,1%) eram do gênero masculino e 45 (45,9%) do gênero feminino. A média de idade foi de 46,44 anos ($\pm 9,8$), com idade mínima de 25 anos e idade máxima de 71 anos. Quanto à etnia, a amostra foi composta por 10 (10,2%) indivíduos negros, 12 (12,2%) pardos, 75 (76,5%) brancos e 1 (1%) indígena. A etiologia de ambos os vírus (HCV-HIV) estava relacionada com relação sexual desprotegida em 38 dos casos (39%), seguida pelo uso de drogas injetáveis (UDI) em 33 casos (34%) e transfusão sanguínea em 7 casos (7%); 20 casos (20%) tinham causa desconhecida. As frequências dos genótipos CC, CT e TT foram de 28,6%, 45,9% e 25,5%, respectivamente e as frequências alélicas foram 52% para alelo C e 48% para alelo T. Não houve associação entre o gene *MDRI* e a resposta ao tratamento ($p=0,380$). **Conclusão:** Neste estudo, o polimorfismo C3435T do gene *MDRI* não apresentou associação com a resposta ao tratamento em indivíduos coinfectados HCV-HIV.

Palavras-Chave: Coinfecção HCV-HIV. Polimorfismo de nucleotídeo único. Gene de resistência a múltiplas drogas.

ABSTRACT

Introduction: Due to the high prevalence of co-infected by HCV and HIV and numerous complications they present becomes essential to get a better understanding of the biological behavior of the same. Studies show that the response to treatment may be related to resistance to drugs used. The single nucleotide polymorphism (SNP) C3435T in the multidrug resistance gene *MDR1*, in which there is change in the codon ATC to ATT, is associated to the response to treatment using drugs in a variety of diseases. **Aim:** Analyze the C3435T polymorphism in the *MDR1* gene in patients co-infected with HIV and HCV-r correlating the distribution to the response to treatment of hepatitis C. **Methods:** A total of 98 patients diagnosed with HIV and HCV between Januarys to December 2013 were included in this study. We evaluated the risk factors for acquiring the virus, response to treatment of hepatitis C and the molecular identification of the polymorphism in the *MDR1* gene was determined by allele-specific Real Time PCR (qPCR) using specific primers and probes to identify the polymorphism. **Results:** Among the patients, 53 (54.1%) were male and 45 (45.9%) were female. The average age was 46.44 years (\pm 9.8), with a minimum age of 25 years and maximum age of 71 years. Regarding ethnicity, 10 (10.2%) individuals were black, 12 (12.2%) mulattos, 75 (76.5%) white and 1 (1%) indigenous. The etiology of both viruses (HCV-HIV) was related to unprotected sex in 38 cases (39%), followed by injection drug use (IDU) in 33 cases (34%), and blood transfusion in 7 cases (7%); 20 cases (20%) had unknown cause. The frequencies of the genotypes CC, CT and TT were 28.6%, 45.9% and 25.5%, respectively, and the allelic frequencies were 52% for the C allele to allele and 48% T. There was no association between *MDR1* gene and response to treatment ($p = 0.380$). **Conclusion:** In this study, the polymorphism C3435T in the *MDR1* gene was not associated to drug response in patients infected with HCV-HIV.

Keywords: HCV-HIV coinfection. Single nucleotide polymorphism. Multiple drug resistance gene.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Tabela 1 (Artigo) – Características dos pacientes coinfectados.....	36
Tabela 2 (Artigo) – Expressão dos genótipos do SNP C3435T do gene <i>MDR1</i> na resposta ao tratamento.....	36
Tabela 3 (Artigo) – Associação entre as diferentes etnias e a resposta ao tratamento da hepatite C.....	37
Tabela 4 (Artigo) – Associação entre sexo e resposta ao tratamento para hepatite C.....	37
Figura 1 (Artigo) – Frequência do polimorfismo C3435T do gene <i>MDR1</i> entre as etnias.....	37
Figura 2 (Artigo) – Frequência do SNP C3435T do <i>MDR1</i> entre os gêneros	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS/SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ALT/TGP	Aspartato Aminotransferase / Transaminase Glutâmico Pirúvica
AST/TGO	Alanino Aminotransferase / Transaminase Glutâmico Oxalacética
ATC	Códon que codifica o aminoácido isoleucina
C	Alelo selvagem do SNP C3435T do <i>MDR1</i>
CC	Genótipo homocigoto selvagem do SNP C3435T do <i>MDR1</i>
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i> dos Estados Unidos
cDNA	DNA complementar
CHC	Carcinoma hepatocelular
CT	Genótipo heterocigoto do SNP C3435T do <i>MDR1</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
GGT	Ezima Gamaglutamiltranspeptidase
HAART	Terapia Antirretroviral Altamente Ativa
HCV	Vírus da Hepatite C
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HNSC	Hospital Nossa Senhora da Conceição
IMC	Índice de Massa Corporal
INF α	Interferon-alfa recombinante
MDR	Resistência a Múltiplas Drogas
<i>MDR1</i>	Gene de Resistência a Múltiplas Drogas 1
MELD	Escore <i>Model for End-Stage Liver Disease</i>
NNRTIs	Inibidores da transcriptase reversa não-nucleosídicos
NRTIs	Inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos e nucleotídeos
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PEG	Peguilado
PgP	Glicoproteína-P
PIs	Inibidores de protease
qPCR	Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real
RNA	Ácido Ribonucleico
RNI	Razão Normalizada Internacional

RS	Rio Grande do Sul
RT-PCR	Transcrição Reversa seguida por Reação em Cadeia da Polimerase
RVS	Taxa de Resposta Viroológica Sustentada
SNP	Polimorfismo de Nucleotídeo Único
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
T	Alelo polimórfico do SNP C3435T do <i>MDRI</i>
TT	Genótipo Homozigoto Polimórfico
UDI	Uso de Drogas Injetáveis

SUMÁRIO

1. REVISÃO DA LITERATURA	14
1.1. Vírus da Hepatite C – HCV	14
1.2. Vírus da Imunodeficiência Humana – HIV	16
1.3. Coinfecção HCV-HIV	18
1.4. Polimorfismos genéticos	19
1.5. O Gene <i>MDR1</i>	20
1.5.1. Polimorfismos do gene <i>MDR1</i>	20
2. JUSTIFICATIVA	22
3. OBJETIVOS	23
3.1. Objetivo Geral	23
3.2. Objetivos Específicos	23
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
5. ARTIGO	28
6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	44

1. REVISÃO DA LITERATURA

1.1. Vírus da Hepatite C – HCV

A hepatite C é considerada um dos grandes problemas de saúde pública, com aproximadamente 3% da população mundial infectada pelo vírus da hepatite C (HCV), o que representa cerca de 170 milhões de indivíduos com infecção crônica e sob o risco de desenvolver as complicações da doença¹. A hepatite C é considerada uma epidemia silenciosa, o que dificulta o diagnóstico e compromete as medidas de controle da infecção. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), o Brasil é considerado um país de endemicidade intermediária para hepatite C, com prevalência da infecção situada entre 2,5% e 10%². Dentre as capitais brasileiras, Porto Alegre ocupa primeiro lugar em número de casos detectados de hepatite C³.

A hepatite C é causada pelo HCV, um vírus RNA da família *Flaviviridae*, gênero *Hepacivirus*, identificado em 1989⁴. Seu genoma possui aproximadamente 9.500 nucleotídeos; sua cadeia de RNA é composta por duas regiões terminais altamente conservadas e não codificantes (NC), respectivamente 3'NC e 5'NC, e por uma região de fase de leitura que codifica uma proteína viral com 3.011 aminoácidos^{5,6}. O HCV apresenta frequência elevada de mutações espontâneas que resultam em uma grande diversidade genética, havendo 7 genótipos principais e vários subtipos virais^{7,8}. No Brasil, há predomínio do genótipo 1, subtipo 1b, seguido do genótipo 3; tal distribuição também é observada em pacientes da nossa região^{9,10}. O processo de replicação do HCV ocorre no citoplasma do hepatócito e sua taxa de replicação pode ser bastante elevada, variando entre 10^{10} a 10^{12} virions por dia, com meia-vida viral estimada de 2 a 3 horas¹¹.

A transmissão do HCV ocorre pelo contato com sangue infectado em virtude de exposição percutânea, transfusão de sangue e/ou hemoderivados e transplantes de doadores infectados. Atualmente destacam-se como formas de transmissão do HCV o compartilhamento de equipamentos para uso de drogas endovenosas, objetos de uso pessoal – tais como lâmina de barbear ou depilar – e instrumentos para pedicure/manicure. Predominantemente a infecção é adquirida na idade adulta, onde mais de 80% dos pacientes com infecção se tornam portadores crônicos da doença, aproximadamente 20% evoluem para cirrose e 1% a 4% desenvolvem carcinoma hepatocelular (CHC)^{12,13,14,15}.

O diagnóstico da hepatite C é realizado através de dois tipos de técnicas: os ensaios imunoenzimáticos e os ensaios moleculares baseados na reação em cadeia da polimerase

(PCR) para o teste confirmatório⁶. As técnicas de biologia molecular são consideradas padrão-ouro para a determinação da infecção pelo HCV; esses métodos são úteis para o diagnóstico inicial e também para o monitoramento da resposta aos antivirais, podendo ser qualitativos ou quantitativos^{7,8}. Os testes qualitativos informam a presença ou não de até 75% de RNA viral (resultado positivo ou negativo). Um teste sensível para a identificação do RNA do HCV é a reação de transcrição reversa seguida pela reação em cadeia de polimerase (reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR), que catalisa a síntese do DNA complementar (cDNA) a partir da região 5'RNC do RNA viral e amplifica esta região⁷. Mais recentemente protocolos baseados em PCR em tempo real (qPCR) têm sido desenvolvidos, fornecendo resultados mais rápidos de forma sensível e quantitativa. Além disso, outro exame incorporado à prática clínica é a genotipagem do HCV, pois a identificação do genótipo é de grande importância na epidemiologia, no diagnóstico e no tratamento da hepatite C.

O genótipo do HCV pode ser determinado diretamente por metodologias moleculares, tais como sequenciamento direto, hibridização e RT-qPCR. O conhecimento do genótipo do HCV é fundamental no planejamento do tempo de tratamento e no tipo de medicamento a ser empregado^{7,8}. Juntamente com esses testes, os pacientes com hepatite C crônica podem ser submetidos à biópsia hepática para ser avaliado o grau de inflamação e o estágio de fibrose⁶.

O escore METAVIR é utilizado como padrão para classificação das biópsias hepáticas e mede a necro-inflamação numa escala de 0 até 3 e a fibrose numa escala de 0 até 4. A escala de intensidade necro-inflamatória é categorizada em A0 = sem atividade histológica; A1= leve atividade; A2 = atividade moderada e A3= atividade intensa. O grau de fibrose assim se classifica: F0 representa uma arquitetura do fígado normal sem presença de fibrose; F1 mostra uma simples expansão fibrosa na veia porta; F2 é caracterizada pela formação de “pontes” no sistema porta; na F3 ocorre formação de septos mais longos e espessos na estrutura do fígado e F4 indica um quadro de cirrose¹⁶. Pacientes com inflamação ou fibrose (Metavir A \geq 2 ou F \geq 2) possuem indicação para terapia¹⁷. Outros exames complementares também são utilizados na prática clínica, como:

- Aminotransferase – a aspartato aminotransferase (AST/TGO) e a alanino aminotransferase (ALT/TGP) são marcadores de agressão hepatocelular. Na fase aguda da hepatite C, ALT pode atingir valores geralmente superiores a 10 vezes o limite superior do normal (LSN) podendo atingir 25 - 100 vezes o LSN e na forma crônica, na maioria das vezes, ocorre flutuação das aminotransferases em torno de 2 a 3 vezes o LSN.

- Bilirrubinas – pode haver um aumento tanto da fração não conjugada (indireta) quanto da conjugada (direta), sendo predominante esta última. Pode ser detectada precocemente na urina e antes mesmo do surgimento da icterícia.

- Proteínas sérias – normalmente, não se alteram nas formas agudas de hepatite C, mas na cirrose ocorre a redução da síntese protéica com diminuição progressiva e acentuada dos níveis de albumina sérica.

- Atividade de protrombina – em forma aguda geralmente não há alteração, já na fase crônica da doença o aumento do tempo de protrombina indica deterioração da função hepática.

- Hemograma – a leucopenia é habitual na forma aguda, entretanto na fase crônica a plaquetopenia é mais frequente¹⁸.

O tratamento da hepatite crônica causada pelo HCV baseou-se durante muitos anos no emprego do interferon alfa recombinante (INF α) ou peguilado (PEG) associado à Ribavirina, com taxas de resposta virológica sustentada (RVS) que podem variar dependendo do genótipo viral, dentre outros fatores¹⁹. Atualmente, novos medicamentos aprovados para tratamento do HCV apresentam maiores taxas de RVS e menos efeitos colaterais do que a terapia dupla que empregava a associação de PEG e Ribavirina²⁰. Além das características moleculares do vírus, o perfil genético do paciente, grau de fibrose, carga viral pré-tratamento entre outros também influencia no desenvolvimento da doença e na resposta ao tratamento¹⁹.

Sendo assim, estudos de ampla associação de genoma têm mostrado que a presença de polimorfismo de nucleotídeo único (SNPs) pode estar associada à resposta ao tratamento com interferon e desfecho das doenças. Dentre os SNPs estudados em pacientes com infecção pelo HCV encontra-se o RS 1045642 localizado do gene de Resistência a múltiplas drogas *MDR1*.

1.2. Vírus da Imunodeficiência Humana – HIV

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) é o agente etiológico da síndrome da Imunodeficiência Adquirida (Acquired Immunodeficiency Syndrome – AIDS ou SIDA). A AIDS foi reconhecida oficialmente como doença em 1981, pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (CDC) em função de uma explosão de casos inexplicados de sarcoma de Kaposi e de pneumonia por *Pneumocystis jiroveci* em homossexuais masculinos em diversas cidades dos Estados Unidos²¹. A infecção pelo HIV causa uma doença crônica progressiva que pode levar à destruição do sistema imunológico²².

Na África Subsaariana, ocorreram, aproximadamente, 1,7 milhões de novas infecções e estima-se que, das pessoas com HIV entre o ano de 2001 e 2006, 68% estão nessa região da África²². Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o Brasil se mantém entre os países com epidemia de AIDS, com prevalência da infecção pelo HIV de 0,61% entre a população de 15 a 49 anos²³. As regiões Sul e Sudeste concentram 80% dos casos. Dados do Boletim Epidemiológico de AIDS (2014) do Programa Nacional de AIDS do Ministério da Saúde e da Secretaria Estadual de Saúde do Rio Grande do Sul mostram que o RS foi o terceiro estado com maior incidência de casos de AIDS de 1983 a 2008, com 46.299. O município de Porto Alegre ocupa primeiro lugar entre as capitais brasileiras com maior número de casos de AIDS notificados e diagnosticados²³.

Até o momento, foram descritos dois tipos de HIV: HIV-1 e HIV-2. Ambos são classificados na família *Retroviridae* (devido à presença da enzima transcriptase reversa – RT, *reverse transcriptase*), subfamília *Orthoretrovirinae*, gênero *Lentivirus* (latim *lentus* = lento)²¹. O HIV-1 é o tipo mais virulento e mais disseminado pelo mundo, enquanto o HIV-2 parece ser menos patogênico e é encontrado, quase que exclusivamente, no oeste da África. O tipo 1 apresenta nove subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J e K), e o tipo 2 possui cinco subtipos (A, B, C, D e E) descritos até o momento²².

O HIV age infectando células do sistema imunológico que possuem a molécula CD4 na superfície, principalmente os linfócitos T auxiliares, embora outras células também sejam susceptíveis à infecção. Os linfócitos T auxiliam o controle da resposta do organismo às infecções, que poderiam ser fatais caso eles não existissem. O HIV causa a redução no número de células T CD4+ do organismo por mecanismos ainda não totalmente elucidados. Com o declínio no número de linfócitos T CD4+ abaixo do limiar aceitável, o corpo perde a imunidade mediada por células e torna-se progressivamente mais suscetível a infecções oportunistas²⁴. A capacidade do HIV de infectar um indivíduo depende de alguns fatores que são relacionados às suas características biológicas e comportamentais, sendo que as principais formas de transmissão são: sexual, sanguínea e vertical (em que a mãe pode transmitir o vírus para o filho durante a gestação, parto ou aleitamento)²⁴.

As manifestações clínicas da infecção por HIV podem ser divididas em infecção aguda; fase assintomática ou latência clínica, fase sintomática inicial (contagem de CD4+ > 500 células/mm³), fase sintomática intermediária (CD4+ entre 200 e 500 células/mm³) e infecção avançada (<200 células/mm³). Atualmente, essas fases não são muito bem delineadas devido ao tratamento com os antirretrovirais²².

A terapia antirretroviral altamente ativa (HAART) surgiu na década de 90 e, com isso, as manifestações clínicas decorrentes da infecção pelo HIV passaram a ser controladas, trazendo assim uma melhoria no cenário da mortalidade devida a AIDS, que apresentou uma redução dos casos com evolução rápida ao óbito. O aumento na sobrevivência dos pacientes com AIDS se deu principalmente devido à disponibilização ampla desses medicamentos²⁵. Em 1996 o Brasil passou a fornecer gratuitamente a terapia antirretroviral, baseada em uma estratégia que utiliza um esquema aberto para o tratamento individualizado dos portadores do HIV. Os principais objetivos do tratamento com esses medicamentos são: i) reduzir a morbidade e a mortalidade associada à infecção pelo HIV; ii) prevenir e, quando possível, restaurar o sistema imunológico; iii) suprimir a replicação viral.

Entre os quimioterápicos anti-HIV encontram-se os inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos e nucleotídeos (NRTIs), que são fosforilados por enzimas celulares e incorporados durante a replicação do material genético viral, provocando o término da cadeia. Já os inibidores análogos não-nucleosídicos da transcriptase reversa (NNRTIs) apresentam outro mecanismo de inibição, ligando-se a local próximo ao sítio ativo da enzima. Os inibidores da protease (PIs) bloqueiam a clivagem proteolítica das poliproteínas precursoras Gag e Gag-pol, o que faz com que a partícula viral seja liberada na forma imatura e não-infecciosa. Há também um inibidor de fusão e um antagonista do co-receptor CCR5 que impedem que o vírus penetre na célula e realize sua biossíntese. Atualmente utiliza-se o emprego de múltiplas drogas, pois assim a carga viral é reduzida para um nível indetectável, fazendo com que haja a diminuição da morbidade e mortalidade em pacientes infectados.

Alguns autores têm demonstrado que polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) do gene humano *MDR1*, que codifica para a P-gp na resistência a múltiplas drogas, têm sido associados com a variabilidade da absorção da droga e disposição, bem como com a resposta à droga e à toxicidade de vários PIs em pacientes infectados com HIV²⁶.

1.3 Coinfecção HCV-HIV

Nos últimos anos, a infecção pelo HCV vem sendo comumente observada em indivíduos infectados pelo HIV. O HCV e o HIV compartilham semelhantes modos de transmissão, principalmente via parenteral, sexual e vertical. Usuários de drogas injetáveis representam um grupo de alto risco para coinfecção HCV/HIV²⁷. Um estudo sobre hepatites virais em indivíduos HIV positivos revelou que as chances de adquirir HCV são 10,8 vezes maiores quando a transmissão do HIV ocorreu via parenteral²⁸. Nos indivíduos coinfectados

pode ocorrer uma rápida progressão à cirrose e à AIDS, menor depuração viral, aumento da mortalidade, maior hepatotoxicidade na terapia anti-HIV e, conseqüentemente, menor resposta no tratamento da hepatite C²⁹.

Atualmente, estima-se que 400 milhões de pessoas estejam infectadas com o vírus HIV no mundo, e cerca de 170 milhões pelo HCV²⁹. Na América do Norte e na Europa, cerca de 30% dos pacientes infectados pelo HIV estão coinfectedos com o HCV. No Brasil, essa prevalência varia de 4,1% a 53,8% de acordo com diferentes estudos^{30,31}. Considerando que Porto Alegre é a capital brasileira com maior taxa de detecção tanto de HCV quanto de HIV, o número de indivíduos coinfectedos HCV-HIV também é alto na capital.

As evidências sugerem que o HCV se comporta como uma infecção oportunista em indivíduos infectados pelos HIV. Após a introdução da terapia retroviral, os indivíduos coinfectedos apresentam uma maior sobrevida, possibilitando uma maior progressão da doença hepática e, em consequência, uma maior mortalidade pela doença hepática. O HCV pode aumentar a morbidade e mortalidade relacionada ao HIV, e isto se deve provavelmente a um aumento da hepatotoxicidade da terapia antirretroviral nos indivíduos coinfectedos³². Ainda assim, o uso da HAART tem reduzido drasticamente a morbidade e a mortalidade nos indivíduos infectados pelo HIV²⁷.

1.4 Polimorfismos genéticos

Mutações e polimorfismos são dois tipos de alterações genéticas encontradas na população. Ambas são caracterizadas por alterações nas sequências de nucleotídeos do material genético, porém possuem características distintas em relação a sua frequência em uma dada população. As mutações são representadas pela substituição de bases e alterações na organização ou no tamanho das sequências de DNA (ácido desoxirribonucléico)³³. Os polimorfismos genéticos são variações na sequência de DNA, que parecem estar associados a poucas bases. Uma das formas mais estudadas de polimorfismo genéticas são os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), os quais são definidos como polimorfismos resultantes da substituição de um nucleotídeo por outro³³.

A presença de determinados polimorfismos pode ter uma repercussão funcional relacionada ao produto final do gene, que pode ser mensurável e ter participação em algumas alterações relacionadas a um determinado prognóstico. Algumas das alterações podem ocorrer em sequências codificadoras do gene, levando à produção de proteínas defeituosas. Muitos genes contêm variações na sua sequência no genoma humano. Os genes apresentam

localizações específicas ao longo do genoma, sendo essa localização chamada de *locus*, e as sequências que ocupam um determinado *locus* são denominados *alelos*. Considerando que um indivíduo apresenta um par de cada cromossomo autossômico (um deles de origem paterna e o outro de origem materna), ele apresentará dois alelos em cada *locus*, o que determinará o seu genótipo. Se o indivíduo possui dois alelos distintos, apresenta o genótipo heterozigoto, mas se há ocorrência de dois alelos idênticos, apresenta o genótipo homozigoto. Em geral, a forma mais comum do gene na população é chamada de alelo tipo-selvagem e a sequência menos comum é chamada de alelo-mutado ou alelo-polimórfico³⁴. Atualmente os SNPs têm sido amplamente considerados nos estudos da variabilidade de resposta a cada indivíduo frente a diversos fatores, tais como resposta a fármacos, resposta inflamatória, resposta imune, dentre outros.

1.5. O Gene *MDR1*

A resistência a múltiplas drogas (MDR) foi primeiramente observada em cânceres humanos. A quimioterapia é o principal tratamento para cânceres sistêmicos, e embora possa ser eficaz, a maior parte dos cânceres metastáticos se apresentam resistentes à quimioterapia ou, embora responda ao tratamento inicialmente, retorna como um câncer que adquiriu resistência. Esse fenômeno recebeu o nome de resistência a múltiplas drogas³⁵. Em seres humanos, existem dois subtipos de genes da família MDR, denominados *MDR1* e *MDR2*, sendo que apenas o gene *MDR1* confere o fenótipo de resistência³⁶.

O gene *MDR1* (NT_007933; NM_000927), que é também chamado de *ABCB1*, está localizado no braço longo do cromossomo 7, em 7q21.1³⁷ e é constituído por uma região promotora de 29 éxons, totalizando 209kb^{38,39}.

Tem-se observado que as células que apresentam um fenótipo de resistência a múltiplas drogas apresentam também um aumento na expressão da glicoproteína P (PgP, onde P significa permeabilidade). Essa glicoproteína P pertence à subfamília ABCB da superfamília de transportadores ABC (ATP-binding cassette), que inclui proteínas que transportam uma ampla variedade de substratos, tais como açúcares, aminoácidos, peptídeos e íons orgânicos^{40,41}.

Atualmente são conhecidas várias isoformas da glicoproteína P, classificadas em classe I, II e III. As classes I e II estão relacionadas com a resistência a múltiplas drogas, as quais são codificadas pelo gene *ABCB1* (*MDR1*). Já a classe III está envolvida no transporte

de fosfolipídios⁴². Em 2000, Hoffemeyer e seus colaboradores descreveram 15 SNPs para o gene *MDRI*, sendo que atualmente esse número chega a 29 SNPs⁴³. Dentre esses polimorfismos descritos, os mais estudados e citados são: C1236T, G2677T/A e C3435T, porém apenas o polimorfismo da posição C3435T, que está localizado no exon 26, apresenta correlação com os níveis de expressão e atividade da Pgp.

1.5.1. Polimorfismos do gene *MDRI*

As inúmeras variações na forma de como diferentes indivíduos respondem aos tratamentos farmacológicos são constantemente observadas e podem resultar de diferenças genéticas em enzimas de metabolização e em proteínas de transporte de drogas. Os polimorfismos genéticos podem alterar a expressão de receptores celulares que atuam com a função de transportar diversas substâncias. Esses transportadores se localizam principalmente nas células intestinais, no epitélio renal e nas células hepáticas, sendo responsáveis pela absorção, eliminação e biodisponibilidade de vários medicamentos. A afinidade do transportador pelo substrato pode resultar em alterações na absorção e na eliminação de medicamentos⁴⁴. A resistência celular a diversas drogas vem sendo considerada uma das barreiras mais significativas ao tratamento efetivo de diversas infecções e doenças.

As células podem expressar mecanismos que conferem resistência a várias drogas, conhecidos como resistência a múltiplas drogas (MDR). Como citado acima, os polimorfismos mais estudados e citados são aqueles presentes do gene *MDRI*, como os SNPs C1236T, G2677T/A e C3435T.

O SNP da posição 3435 apresenta as variantes alélicas C e T. Para esse polimorfismo, o alelo tipo selvagem é considerado o alelo C. Apesar desse polimorfismo não causar alteração no aminoácido codificado (isoleucina), ocorre modificação do códon ATC para ATT, o que parece estar relacionado a alterações na proteína codificada Pgp. Recentemente, foram analisadas combinações genotípicas dos três principais polimorfismos, observando que apenas o polimorfismo da posição 3435 está envolvido neste processo, reafirmando os resultados publicados por estudos anteriores⁴⁵.

2. JUSTIFICATIVA

Devido à alta prevalência de coinfectados pelos vírus HCV e HIV e às inúmeras complicações que apresentam, esse trabalho vem expor a necessidade de melhoria no prognóstico dos pacientes portadores dos vírus HCV e HIV. Considerando que Porto Alegre ocupa primeiro lugar, entre as capitais brasileiras, em taxa de detecção tanto de HCV quanto de HIV, este trabalho é de extrema importância e visa contribuir para o aprimoramento no prognóstico dos portadores desses vírus e, conseqüentemente, na melhoria da qualidade de vida desses pacientes.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo geral mapear o polimorfismo C3435T do gene *MDR1* em paciente coinfectados pelos vírus HCV-HIV e correlacionar sua distribuição com a resposta ao tratamento da hepatite C.

3.2. Objetivos Específicos

- Determinar a frequência genotípica e alélica para as variantes selvagem e polimórfica referentes ao polimorfismo C3435T do gene *MDR1*.
- Associar os genótipos encontrados para o polimorfismo do gene *MDR1* com a resposta ao tratamento para hepatite C.
- Associar as frequências do alelo C e do alelo T com a resposta ao tratamento para hepatite C.
- Associar os genótipos do gene *MDR1* com diferentes grupos étnicos.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Martins RM, Teles AS, Freitas NR, Motta-Castro ARC, Souto FJD, Mussi A, Amorim RMS, Martins CRF. Distribution of hepatitis C Virus Genotypes among blood donors from mid-West region of Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2006;48(1):53-55.
2. Martins T, Narciso-Schiavon JL, Shiavon,LL. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite C. *Rev Assoc Med Bras*. 2011;57(1):107-112.
3. Ministério da Saúde, Brasil. Boletim Epidemiológico Hepatites Virais. Ano III, nº 1. 2012. 173p.
4. Gordon FD, Poterucha JJ, Germer J, Zein NN, Batts KP, Gross JBJr, Wiesner R, Persing D. Relationship between Hepatitis C Genotype and severity of recurrent hepatitis C after liver transplantation. *Transplantation*. 1997;63(10):1419-1429.
5. Mcgarvey MJ, Houghton M, Weiner AJ. Structure and molecular virology. In: Zuckerman, AJ, Toma, HC. *Viral Hepatitis*. 2ª Ed. Ed. London Churchill Livingstone. 1998:253-270.
6. Chidarmo MC, Soares JAS, Coelho HSM. Hepatite Crônica pelo vírus C. In : *Tratado de Hepatologia* (Ângelo Mattos e Esther Corrêa) Ed. Rubio, Rio de Janeiro. 2010:211-227.
7. Silva GF, Yamashiro FS. Marcadores virais. In: Edison, A; Parise, R. *Manual de Diagnóstico e Tratamento das doenças do Fígado*. Ed. Atheneu, São Paulo. 2011:1-7.
8. Simmonds P, Bukh J, Combet C, Deléage G, Enomoto N, Feinstone S, Holfon P, Inchauspé G, Kuiken C, Maertens G, Mizokami M, Murphy DG, Okamoto H, Paqlotsky JM, Penin F, Sablon E, Shin IT, Stuyver LJ, Thiel HJ, Viazov S, Weiner AJ, Widell A. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*. 2005;42:962-973.
9. Sociedade Brasileira de Hepatologia (SBH). Relatório do Grupo de Estudo da Sociedade Brasileira de Hepatologia. *Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite C no Brasil*. 1999;18:3-8.
10. Fernando H, Wolff SC, Fuchs NNT, Barcellos PRA, Ikeda MLR, Ajácio BMB, Maicon F, Flávio DF. Co-Infection by Hepatitis C Virus in HIV-Infected Patients in Southern Brazil: Genotype Distribution and Clinical Correlates. *PLoS One*. 2010;5(5):10494-10496.
11. Neumann AU, ET AL. Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon-alpha therapy. *Science*. 1998;282(538):1007-1007.

12. Ozaras R, Tahan V. Acute hepatitis C: prevention and treatment. *Expert Opin Anti Infect Ther.* 2009;7:351-361.
13. Par A. Prophylaxis and treatment of chronic viral hepatitis as the prevention of hepatocellular carcinoma. *Orv Hetil.* 2009;150:19-26.
14. Tan A, Yeh SB, Liu CJ. Viral hepatocarcinogenesis: from infection to cancer. *Liver Int.* 2008;28:175-188.
15. Veldt BJ, Heathcote EJ, Wedemeyer H. Sustained virologic response and clinical outcomes in patients with chronic hepatitis C and advanced fibrosis. *Ann Intern Med.* 2007;147:677-684.
16. Bedossa P, Poynard T. The French METAVIR Cooperative Study Group, Na algorithm for grading activity in chronic hepatitis C. *Hepatology.* 1996;24:289-293.
17. Chevaliez SPD, Pawlotsky JM. Use of Virologic Assays in the Diagnosis and Management of Hepatitis C virus Infection. *Clin Liver Dis.* 2005;3(9):371-382.
18. Ministério da Saúde, Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Guia de vigilância epidemiológica. 2009;7.
19. Shinoni MI, Gomes ATB, Paraná R. Tratamento. In: Edison, A; Parise, R. Manual de Diagnóstico e Tratamento das doenças do Fígado. Ed. Atheneu, São Paulo. 2011:47-52.
20. European Association for the Study of the Liver and the American Association for the Study of Liver. Hepatic Encephalopathy in Chronic Liver Disease: 2014 Practice Guideline *J Hepatol* (2014).
21. Rachid M, Schechter M. Manual de HIV e AIDS. 6ª edição. Rio de Janeiro: Revinter, 2001.
22. Santos NOS, Romanos MTV, Wigg MD. Introdução à virologia humana – segunda edição. Ed. Guanabara Koogan. 2008;(14):410-447.
23. Ministério da Saúde, Brasil. Boletim Epidemiológico HIV-AIDS. Ano III, nº 1. 2014. 82p.
24. Wigg MD. Vírus da imunodeficiência humana. In: Introdução a virologia humana. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008;(14):410-447.
25. Melo, LSW, Lacerda, HR, Campelo E, Moraes E, Ximenes RAA. Survival of AIDS patients and characteristics of those who died over eight years of highly active antiretroviral therapy, at a Referral Center in Northeast Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2008; 12(4):269-277.

26. Bellusci CP, Rocco C, Aulicino P, Mecikovsky D, Curras V, Hegoburu S, Bramuglia GF, Bologna R, Sen L, Mangano A. Influence of MDR1 C1236T polymorphism on lopinavir plasma concentration and virological response in HIV-1-infected children. *Gene*. 2013;522(1):96-101.
27. Mendes-Corrêa MCJ, Barone AA. Hepatitis C in patients co-infected with human immunodeficiency virus: a review and experience of a Brazilian ambulatory. *Rev Inst Med trop S Paulo*. 2005;47(2):59-64.
28. Pavan MHP, Aoki FH, Monteiro DT, Gonçalves NSL, Escanhoela CAF, Júnior FLG. Viral hepatitis in patients infected with human immunodeficiency virus. *Braz J Infect Dis*. 2003;7(4):253-261.
29. Rockstroh JK. Should HIV/HCV Coinfected patients with severe hepatitis be treated for hepatitis C. *Press Med*. 2005;34(20):1585-1588.
30. Mendes-Corrêa MCJ, Barone AA, Guastini C. Hepatitis C virus seroprevalence and risk factors among patients whit HIV infection. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 2001;43(1):15-19.
31. Martins JRP, Jamal LF, Chen SY, Barros MB, Hudes ES, Barbosa AA, Chequer P, Teixeira PR, Hearst N. Dramatic improvement in survival among adult Brazilian AIDS patients. *AIDS*. 2003; 17(11):1675-1682.
32. Hall CS, Charlebois ED, Hahn JÁ, Moss AR, Bangsberg DR. Hepatitis C vírus infection in San Francisco's HIV-1-infected urban poor. *Int J Gen Med*. 2004:357-365.
33. Brasileiro-Filho G, Guimarães RC, Bogliolo L. Distúrbios do crescimento e da diferenciação celular. In: Brasileiro-Filho G (Ed.). *Patologia clínica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1998:148-92.
34. Butler JM. *Forensic DNA typing: biology, technology, and genetics of STR markers*. Elsevier Academic Press, New York. 2005:201-239.
35. Kessel D, Hall TC, Roberts D & Wodinsky I. Uptake as a determinant of methotrexate response in mouse leukemia. *Science*. 1965;150:752-754
36. Ng WF, Sarangi F, Zastawny RL, Venot-Drebot L, Ling V. Identification of members of the P-glycoprotein multigene family. *Mol Cell Biol*. 1989;9:1224-1232.
37. Callen DF, Baker E, Simmers RN, Seshadri R, Roninson IB. Localization of the human multiple drug resistance gene, MDR1, to 7q21.1. *Hum Genet*. 1987;142-144.
38. Bodor M, Kelly EJ, Ho RJ. Characterization of the human MDR1 gene. *AAPS J*. 2005:01-05.

39. Chen CJ, Clark D, Ueda K, Pastan I, Gottesman MM, Roninson IB. Genomic organization of the human multidrug resistance (MDR1) gene and origin of P-glycoproteins. *J Biol Chem.* 1990;265(1):506-14.
40. Dean M, Rzhetsky A, Allikmets R. The human ATP-Binding Cassette (ABC) transporter Superfamily genome. 2001;(a):1156-1166.
41. Dean M, Hamon Y, Chimini G. The human ATP-Binding Cassette (ABC) transporter Superfamily *J. Lipid.* 2001;(b):1007-1017.
42. Van Helvoort A, Smith AJ, Sprong H, Fritzsche I, Schinkel AH, Borst P, Van Meer G. MDR1 P-Glycoprotein is a lipid translocase of broad specificity, while MDR3 P-glycoprotein specifically translocates phosphatidylcholine. *Cell.* 1996:507-517.
43. Hoffmeyer S, Burk O, Von Richter O, Arnold HP, Brockmöller J, Hojne A, Cascorbi I, Gerloff T, Roots I, Eichelbaum M, Brinkmann U. Functional polymorphisms of the human multidrug resistance gene: Multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci.* 2000;97:3473-3478.
44. Sakaeda T, Nakamura T, Okumura K. MDR1 genotype-related pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Biol Pharm Bull.* 2002;25:1391-400.
45. Wang D, Johnson AD, Papp AC, Deanna LK, Sadée W. Multidrug resistance polypeptide 1 (MDR1, ABCB1) variant 3435>T affects mRNA stability. *Pharmacogenet Genomics.* 2005;15:693-704.

5. ARTIGO

(Elaborado segundo as normas de publicação da revista *Liver International*)

Frequência do polimorfismo C3435T rs1045642 do gene *MDR1* em pacientes coinfetados HCV-HIV

Giórgia de Souza Marasca¹, Néelson Alexandre Kretzmann Filho², Adaliany Cecília da Silva Souza³, Ângelo Alves de Mattos⁴, Dimas Kliemann⁵, André Machado⁶ e Ana Beatriz Gorini da Veiga^{7,*}

¹ Biomédica, Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Hepatologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA).

² Professor do Programa de Pós-Graduação em Medicina Animal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e professor do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Ritter dos Reis (UNIRITTER).

³ Bióloga, Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Hepatologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), BR.

⁴ Professor Titular da Disciplina de Gastroenterologia e do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Hepatologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA).

⁵ Médico Infectologista Hospital Nossa Senhora da Conceição (HNSC). Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Hepatologia, UFCSPA.

⁶ Médico Infectologista Hospital Nossa Senhora da Conceição (HNSC). Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Hepatologia, UFCSPA.

⁷ Professora Associada, Departamento de Ciências Básicas da Saúde. Laboratório de Biologia Molecular, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Hepatologia, Programa de Pós-Graduação em Patologia. Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA).

*Dados para correspondência:

Ana Beatriz Gorini da Veiga

Rua Sarmiento Leite, 245 / sala 309 – UFCSPA. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil - CEP 90050-170 Telefone: +55 (51) 3303-8763

Email: anabgv@ufcspa.edu.br

RESUMO

Introdução: Devido à alta prevalência de coinfectados pelos vírus HCV e HIV e às inúmeras complicações que estes apresentam torna-se fundamental que se consiga um maior entendimento do comportamento biológico dos mesmos. Estudos apontam que a resposta ao tratamento pode estar relacionada à resistência aos medicamentos utilizados. O polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) C3435T do gene de resistência a múltiplas drogas *MDR1*, no qual ocorre modificação do códon ATC para ATT, parece estar relacionado à resposta ao tratamento com uso de fármacos em diversas doenças. **Objetivo:** Mapear o polimorfismo C3435T do gene *MDR1* em paciente coinfectados pelos vírus HCV-HIV e correlacionar sua distribuição com a resposta ao tratamento da hepatite C. **Metodologia:** Foram analisados 98 pacientes com diagnóstico de infecção HCV-HIV no período de janeiro a dezembro de 2013. Foram avaliados os fatores de risco para aquisição dos vírus, resposta ao tratamento da hepatite C e a identificação molecular do polimorfismo do gene *MDR1* foi determinado pela técnica de PCR Real Time (qPCR) alelo-específico com *primers* e sondas específicos para a identificação do polimorfismo. **Resultados:** Dos pacientes avaliados, 53 (54,1%) eram do gênero masculino e 45 (45,9%) do gênero feminino. A média de idade foi de 46,44 anos ($\pm 9,8$), com idade mínima de 25 anos e idade máxima de 71 anos. Quanto à etnia, a amostra foi composta por 10 (10,2%) indivíduos negros, 12 (12,2%) pardos, 75 (76,5%) brancos e 1 (1%) indígena. A etiologia de ambos os vírus (HCV-HIV) estava relacionada com relação sexual desprotegida em 38 dos casos (39%), seguida pelo uso de drogas injetáveis (UDI) em 33 casos (34%) e transfusão sanguínea em 7 casos (7%); 20 casos (20%) tinham causa desconhecida. As frequências dos genótipos CC, CT e TT foram de 28,6%, 45,9% e 25,5%, respectivamente e as frequências alélicas foram 52% para alelo C e 48% para alelo T. Não houve associação entre o gene *MDR1* e a resposta ao tratamento ($p=0,380$). **Conclusão:** Neste estudo, o polimorfismo C3435T do gene *MDR1* não apresentou associação com a resposta ao tratamento em indivíduos coinfectados HCV-HIV.

Palavras-Chave: Coinfecção HCV-HIV. Polimorfismo de nucleotídeo único. Gene de resistência a múltiplas drogas.

INTRODUÇÃO

A hepatite C é considerada um dos grandes problemas de saúde pública, com aproximadamente 3% da população mundial infectada pelo vírus da hepatite C (HCV), o que representa cerca de 170 milhões de indivíduos com infecção crônica e sob o risco de desenvolver as complicações da doença, que incluem cirrose hepática e carcinoma hepatocelular¹. A hepatite C pode apresentar-se como uma epidemia silenciosa, o que dificulta o diagnóstico e compromete as medidas de controle da infecção. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), o Brasil é considerado um país de endemicidade intermediária para hepatite C, com prevalência da infecção situada entre 2,5% e 10%². O município de Porto Alegre ocupa primeira posição, entre as capitais brasileiras, em número de casos diagnosticados de HCV³.

Nos últimos anos, a infecção pelo HCV vem sendo comumente observada em indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), principalmente pelo fato de ambos compartilharem as mesmas vias de transmissão, sendo os usuários de drogas injetáveis um grupo de alto risco para a aquisição de coinfeção HCV-HIV⁴. Também no caso do HIV, Porto Alegre é a capital brasileira com maior taxa de detecção de HIV⁵.

As evidências sugerem que o HCV se comporta como uma infecção oportunista em indivíduos infectados pelos HIV⁶. Após a introdução da terapia antirretroviral, os pacientes portadores de HIV passaram a ter uma maior sobrevida, permitindo o desenvolvimento da doença hepática e, em consequência, o aumento da mortalidade por este motivo. O HCV pode aumentar a morbidade e mortalidade relacionada ao HIV, e isto se deve a um aumento da hepatotoxicidade da terapia antirretroviral nos indivíduos coinfectados dentre outros fatores⁷.

A resposta ao tratamento do HCV pode variar entre os pacientes, e características genéticas desempenham um papel importante na resposta aos fármacos utilizados. Muitos estudos associam polimorfismos genéticos à infecção viral e à resposta ao tratamento da hepatite C. Alguns polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), resultantes da substituição de um nucleotídeo por outro, já foram associados com infecção pelo HCV e HIV^{8,9}.

A resistência a múltiplas drogas (MDR) está relacionada a expressão de alguns genes. Em seres humanos, existem dois subtipos de genes da família MDR, denominados *MDR1* e *MDR2*, sendo que apenas o gene *MDR1* confere o fenótipo de resistência¹⁰. O gene *MDR1* (NT_007933; NM_000927), que é também chamado de *ABCB1*, está localizado em 7q21.1¹¹ e é constituído por uma região promotora de 29 exons, totalizando 209kb^{12,13}. Tem-se

observado que as células que apresentam um fenótipo de resistência a múltiplas drogas apresentam também um aumento na expressão da glicoproteína P (PgP). A PgP pertence à subfamília ABCB da superfamília de transportadores ABC (ATP-binding cassette), que inclui proteínas que transportam uma ampla variedade de substratos, tais como açúcares, aminoácidos, peptídeos e íons orgânicos^{14,15}.

Atualmente são conhecidas várias isoformas da glicoproteína P, classificadas em classe I, II e III. As classes I e II estão relacionadas com a resistência a múltiplas drogas, as quais são codificadas pelo gene *ABCB1*. Já a classe III está envolvida no transporte de fosfolipídios¹⁶. Em 2000 Hoffmeyer e seus colaboradores descreveram 15 SNPs para o gene *MDR1*, sendo que atualmente esse número chega a 29 SNPs¹⁷. Dentre esses polimorfismos descritos, os mais estudados e citados são: C1236T, G2677T/A e C3435T, porém apenas o polimorfismo da posição C3435T, que está localizado no éxon 26, apresenta correlação com os níveis de expressão e atividade da Pgp.

Devido à alta prevalência de coinfectados pelos vírus HCV e HIV e às inúmeras complicações que os pacientes coinfectados apresentam, esse trabalho tem como objetivo mapear o polimorfismo C3435T do gene *MDR1* em paciente coinfectados pelos vírus HCV-HIV e correlacionar sua distribuição com a resposta ao tratamento da hepatite C.

PACIENTES E MÉTODOS

O presente trabalho é um estudo transversal, que avaliou pacientes em acompanhamento no ambulatório de Infectologia Adulto do Hospital Nossa Senhora da Conceição de Porto Alegre, Brasil. A população utilizada nesse estudo foi constituída de pacientes diagnosticados portadores do vírus HIV e HCV, que realizaram acompanhamento no HNSC no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2013. Foram realizadas entrevistas com 98 que aceitaram participar do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Para manter a confidencialidade dos pacientes e facilitar o manuseio dos dados coletados, todos pacientes foram codificados; essa codificação foi feita pelo grupo de pesquisa.

Para cada paciente que aceitou participar do estudo utilizou-se uma ficha de coleta de dados e coleta de uma amostra de sangue em tubos de 4ml contendo EDTA.

Para caracterização da população estudada, foram avaliadas na ficha de coleta de dados as seguintes variáveis: idade, sexo, etnia, resposta ao tratamento com Interferon

peguilado e Ribavirina, genótipo do vírus C, classificação de METAVIR, escore *Model for End-Stage Liver Disease* (MELD) no momento da coleta, fatores de risco para aquisição do HCV, dados laboratoriais (Albumina, Bilirrubinas, RNI, Creatinina, Genotipagem SNP rs1045642). Na variável resposta ao tratamento para HCV, foi considerado resposta virológica sustentada os pacientes que realizaram o tratamento e após 24 semanas apresentavam carga viral indetectável.

Foram coletadas 98 amostras de sangue, as quais foram transferidas para o laboratório de Biologia Molecular da Universidade Federal de Ciências da Saúde (UFCSA), onde se realizaram as análises moleculares.

As amostras foram todas processadas no laboratório de Biologia Molecular da UFCSA, onde se montou um fluxograma de trabalho. Primeiramente todas as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 500g, após foi feita a separação de plasma, camada celular (*buffy coat*) e hemácias. O *buffy coat* foi armazenado em tubos de 1,5ml (Eppendorf) identificados com números de 1 a 98 e mantidos a -80°C até o momento da extração do DNA.

Para extração de DNA utilizou-se apenas o *buffy coat*, o qual possui material genético do paciente. A metodologia utilizada para extração foi realizada segundo Iranpur (2002), com algumas adaptações. Após a extração, a integridade e qualidade do DNA de cada amostra foram analisadas no aparelho *NanoDrop* (*NanoDrop Technologies, Wilmington, USA*). O DNA de cada amostra extraído e quantificado foi armazenado a -80°C.

Para identificação molecular do polimorfismo C3435T/C do gene *MDR1* (número de acesso no GenBank: M29445), foi utilizada a técnica de PCR *Real Time* alelo-específico através do ensaio *TaqMan*, em termociclador *Step One PLUS – Applied Biosystems*, Foster City, CA) com um par de *primers* e duas sondas, aos quais foram desenhados e validados pela *Applied Biosystems* (SNP: rs 1045642). Os *primers* foram utilizados para a identificação da sequência de DNA que contém o polimorfismo e as duas sondas foram classificadas em “sonda normal” – usada para amplificar o alelo C e a “sonda polimórfica” – para amplificar o alelo T 3435T.

As variáveis quantitativas foram descritas por média, desvio padrão, mínimo e máximo. As variáveis qualitativas foram descritas por frequências absolutas e relativas. Para comparar a associação entre o polimorfismo C3435T do gene *MDR1* e a resposta ao tratamento foi utilizado o teste qui-quadrado. Para avaliar as demais associações referentes ao polimorfismo C3435T do gene *MDR1* foi utilizado o teste qui-quadrado de Pearson. O nível de significância adotado foi de 5,0% e as análises foram realizadas no programa SPSS v. 18.0.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital Nossa Senhora da Conceição de Porto Alegre, sob o número de protocolo 12-089.

RESULTADOS

Características dos pacientes

Foram analisados 98 casos, sendo que 53 (54,1%) pacientes eram do gênero masculino e 45 (45,9%) do gênero feminino. A média de idade foi de 46,44 anos ($\pm 9,8$), com idade mínima de 25 anos e idade máxima de 71 anos. A identificação da etnia foi realizada pelo próprio paciente, sendo que 10 (10,2%) indivíduos se consideraram negros, 13 (13,2%) pardos e 75 (76,5%) brancos. Os fatores de risco para aquisição de ambos os vírus (HIV e HCV) estava relacionada com relação sexual desprotegida em 38 dos casos (39%) seguida pelo uso de drogas injetáveis (UDI) em 33 casos (34%), causa desconhecida 20 casos (20%) e transfusão sanguínea em 7 casos (7%). Escores METAVIR e MELD também podem ser verificados na Tabela 1.

Distribuição dos genótipos e alelos do polimorfismo C3435T do gene MDR1

As frequências genotípicas para o polimorfismo C3435T do gene *MDR1* na amostra total de pacientes coinfectados foram de 28 pacientes (28,6%) para o genótipo homozigoto CC, 45 pacientes (45,9%) para o genótipo heterozigoto TC, e 25 pacientes (25,5%) para o genótipo homozigoto TT (Tabela 1). Quando calculada a frequência alélica para a variante polimórfica C, o resultado foi de 52%, e a frequência do alelo T foi de 48% dos casos estudados.

Associação entre o SNP C3435T do MDR1 e a resposta ao tratamento para hepatite C

Dos 98 indivíduos analisados, apenas 32 realizaram tratamento para hepatite C, sendo o genótipo TC do SNP C3435T do gene *MDR1* o mais frequente, tanto na resposta sustentada quanto na resposta recidiva ao tratamento (Tabela 2). Entretanto, não houve relevância significativa nessa associação ($p=0,330$).

Associação entre a distribuição genotípica do polimorfismo C3435T do MDR1 e a etnia

Nos indivíduos considerados negros, o genótipo predominante para o SNP C3435T do *MDR1* foi CC, com um total de 5 pacientes (50,00%). Em indivíduos pardos e brancos o genótipo predominante foi TC, observado em 7 (53,85%) e 35 (46,67%) pacientes, respectivamente. Na análise de associação não houve prevalência significativa entre nenhum dos genótipos do gene *MDR1* e a etnia de indivíduos negros e pardos. Porém, quando analisados os indivíduos considerados brancos, houve uma diferença significativa nas proporções e expressões dos genótipos do gene *MDR1*, sendo o genótipo TC o mais prevalente ($p=0,048$) (Figura 1).

Associação entre a distribuição genotípica do polimorfismo C3435T do MDR1, a etnia e a resposta ao tratamento para hepatite C

Analisando os resultados da distribuição genotípica do polimorfismo C3435T do gene *MDR1*, a etnia e a resposta ao tratamento para hepatite C, não houve diferença significativa entre as três variáveis. Porém quando analisada a resposta ao tratamento e etnias de uma forma geral, foi encontrada associação significativa tanto na resposta sustentada ($p=0,023$) como na resposta recidiva para tratamento da hepatite C ($p=0,001$).

Associação entre a etnia e a resposta ao tratamento para hepatite C

Conforme mencionado, apenas 32 indivíduos realizaram tratamento para hepatite C e houve associação entre resposta ao tratamento e etnia. Por outro lado, quando realizado o teste de qui-quadrado de Pearson para verificar a resposta ao tratamento em cada etnia, não houve associação significativa (Tabela 3).

Distribuição dos genótipos do SNP C3435T do gene MDR1 entre os gêneros

Quando os genótipos CC, TC e TT do SNP C3435T do gene *MDR1* foram analisados por gênero, foi encontrada uma maior frequência do genótipo TC em ambos os gêneros (Figura 2).

Associação entre gênero e resposta ao tratamento para hepatite C

Analisando os resultados da resposta ao tratamento para hepatite C em relação ao gênero, não houve nenhuma associação significativa ($p=0,280$) (Tabela 5).

DISCUSSÃO

Nos últimos anos, a relação entre polimorfismos de base única (SNPs) do gene *MDR1* e a evolução para algumas doenças vem sendo estudada. Os dados da literatura sugerem uma associação entre o polimorfismo C3435T do gene *MDR1* e a resposta virológica sustentada em diversas doenças. Rose e colaboradores sugerem um papel regulador do *MDR1* na expressão gênica em pacientes com hepatopatias¹⁸. A maioria dos estudos sobre o polimorfismo C3435T do gene *MDR1* são com pacientes portadores da hepatite C, tendo sido demonstrado que o alelo C está associado a um melhor prognóstico em pacientes portadores de HCV¹⁹. Por outro lado, em outras condições patológicas, como por exemplo a infecção pelo HIV, o alelo T parece conferir melhor prognóstico, sendo que pacientes infectados pelo HIV homocigotos para o genótipo TT, quando tratados com HAART, apresentam aumento significativo na contagem de células CD4+ e melhor resposta ao tratamento do HCV^{20,21}.

No presente estudo, quando feita a análise do polimorfismo C3435T do gene *MDR1* em pacientes coinfectados pelo HCV e pelo HIV (HCV-HIV), foi observada semelhança nas prevalências do alelo C e do alelo T na população estudada.

Além de polimorfismos gênicos, outras variáveis podem apresentar um papel na resposta à terapia antiviral com Interferon-alfa recombinante e Ribavirina em pacientes portadores de HCV. Por exemplo, estudos em diferentes grupos étnicos demonstraram haver uma diferença na resposta ao tratamento para hepatite C^{22,23}. No presente estudo, quando os grupos étnicos foram analisados conjuntamente, foi encontrada uma possível associação entre etnia e resposta ao tratamento para hepatite C. Porém, devido ao pequeno número de pacientes em cada grupo, não foi possível estabelecer qual etnia é mais responsiva ao tratamento.

O Rio Grande do Sul é um dos estados brasileiros com maior número de infecções por HCV e HIV; a capital, Porto Alegre, ocupa primeiro lugar entre as capitais brasileiras em número de casos detectados para ambos os vírus, de modo que o número de pacientes coinfectados HCV-HIV é alto no município¹. Desta forma, os resultados encontrados no

presente trabalho, além de inéditos, são de grande importância, uma vez que não há estudos sobre o gene *MDRI* em coinfectados HCV-HIV na nossa região.

O presente estudo demonstrou que, para o SNP C3435T do gene *MDRI*, o genótipo mais prevalente foi o TC; além disso, pacientes com infecção causadas pelo HCV e que realizaram tratamento com Interferon alfa recombinante e Ribavirina apresentaram também uma maior frequência para esse genótipo, resultado este que corrobora os resultados encontrados por Timucin e colaboradores¹⁹. Por outro lado, estudos como os de Eicher e colaboradores, e de Yan e colaboradores afirmam que o alelo T não gera nenhuma resposta ao tratamento nem mesmo a outros estímulos químicos, e ainda que a presença deste alelo está associada ao desenvolvimento de alguns tipos de câncer, como hepatocarcinoma, câncer de próstata, câncer de ovário entre outros nesses indivíduos^{23,24}.

Em relação aos grupos étnicos, o presente estudo demonstrou que há uma diferença nas proporções dos genótipos do gene *MDRI*. Em indivíduos brancos, foi observada uma maior frequência do genótipo TC, o que vai ao encontro dos resultados do estudo de Timucin e colaboradores¹⁹. Outro estudo, realizado por Ameyaw e colaboradores, mostrou uma maior frequência do alelo C em indivíduos caucasianos, e que o genótipo TT é encontrado em 1-6% dos indivíduos negros²⁵.

O gene *MDRI* também está relacionado com a resposta a retrovirais em indivíduos infectados pelo HIV²⁰. No entanto, em pacientes com HIV-positivos, o genótipo TT neste SNP do gene *MDRI* está associado a um melhor prognóstico. Segundo Zhu e colaboradores, pacientes portadores do genótipo TT para o gene *MDRI* e que realizam tratamento com antirretrovirais HAART obtiveram um aumento significativo nas células CD4+ após 6 meses de tratamento²⁶.

Desta forma, estudos mais detalhados sobre polimorfismos do gene *MDRI* são necessários para que se possa entender e aperfeiçoar o tratamento e prognósticos de pacientes coinfectados com HCV-HIV. Sendo assim, acredita-se que este estudo poderá ser útil à população de pacientes com coinfeção HCV-HIV, juntamente com pacientes monoinfectados tanto com HIV ou HCV, servindo de suporte ao tratamento desses pacientes, além de contribuir para futuros estudos clínicos.

Tabela 1 – Características dos pacientes com Co-infectados

Variáveis	n= 98
<i>Gênero – n (%)</i>	
Masculino	53 (54,1%)
Feminino	45 (45,%)
<i>Idade (anos) - média±DP</i>	46,44 ± 9,8
<i>Etnia - n (%)</i>	
Branços	75 (76,5%)
Pardo	13 (13,2%)
Negro	10 (10,2%)
<i>Fatores de risco para aquisição de HCV-HIV – n (%)</i>	
Relação sexual desprotegida	38 (39%)
Uso de Drogas Injetáveis (UDI)	33 (34%)
Causa desconhecida	20 (20%)
Transfusão sanguínea	7 (7%)
<i>Genótipo para gene MDR1</i>	
CC	28 (28,6%)
TC	45 (45,9%)
TT	25 (25,5%)
<i>Escore METAVIR – n (%)</i>	
Com cirrose	5 (8,1%)
Sem Cirrose	57 (91,9%)

UDI – Uso de drogas injetáveis. METAVIR: Escore para classificação de fibrose.

Tabela 2. Expressão dos genótipos do SNP C3435T do gene *MDR1* na resposta ao tratamento da hepatite C.

		MDR1			Total
		TT	TC	CC	
Resposta ao Tratamento	Sustentada	2 (15,38%)	6 (46,15%)	5 (38,46%)	13 (100%)
	Recidiva	6 (31,58%)	10 (52,63%)	3 (15,79%)	19 (100%)
Total		8 (46,96%)	16 (98,78%)	8 (54,25%)	

Teste qui-quadrado Exato de Fischer (p= 0,330). MDR1: Resistência a múltiplas drogas

Tabela 3. Associação entre as diferentes etnias e a resposta ao tratamento da hepatite C.

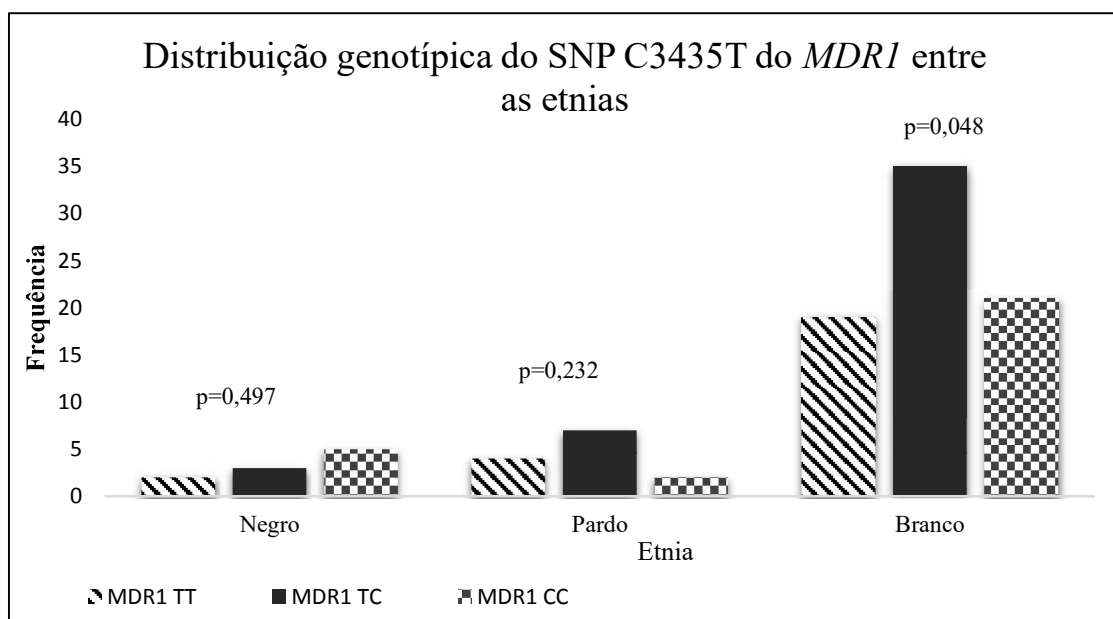
		Etnia			Total (n=97)
		Negros (n=10)	Pardos (n=12)	Branco (n=75)	
Resposta ao Tratamento	Sustentada	2 (20%)	2 (16,7%)	9 (12%)	13 (13,4%)
	Recidiva	1 (10%)	4 (33,3%)	14 (18,7%)	19 (19,6%)
	Não tratados	7 (70%)	6 (50%)	52 (69,3%)	65 (67%)

Teste qui-quadrado Exato de Pearson ($p=0,711$).

Tabela 4. Associação entre Sexo e Resposta ao tratamento para hepatite C.

		Gênero		Total
		Feminino	Masculino	
Resposta ao Tratamento	Sustentada	6 (19%)	7 (22%)	13 (41%)
	Recidiva	9 (28%)	10 (31%)	19 (59%)
Total		15 (47%)	17 (53%)	32 (100%)

Teste qui-quadrado Exato de Fischer ($p=0,280$).

**Figura 1.** Frequência do polimorfismo C3435T do gene *MDR1* entre as etnias

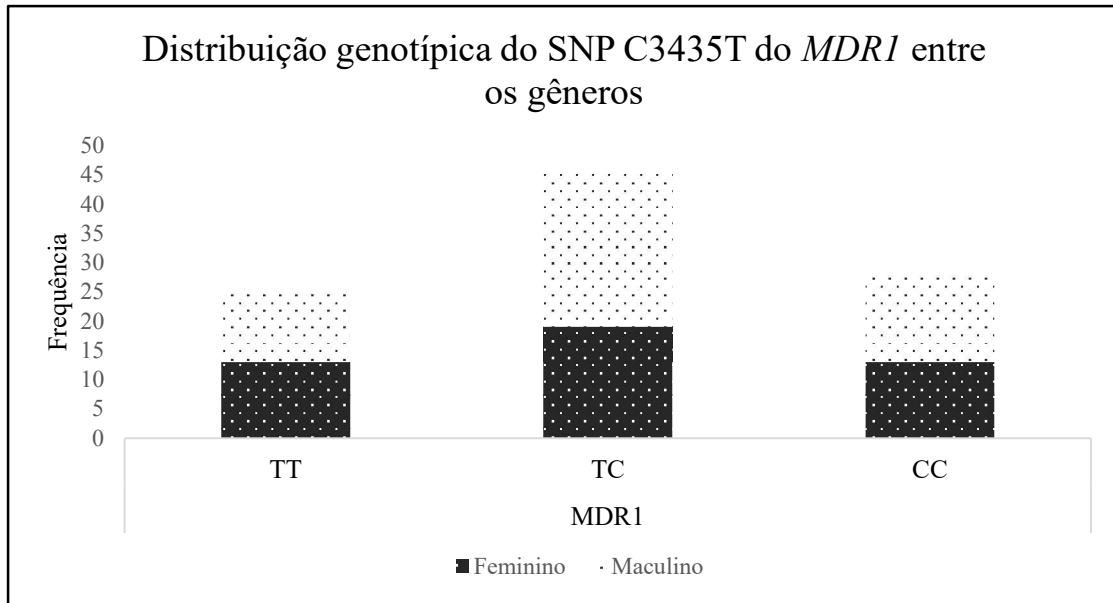


Figura 2. Frequência do SNP C3435T do *MDR1* entre gêneros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Martins RM, Teles AS, Freitas NR, Motta-Castro ARC, Souto FJD, Mussi A, Amorim RMS, Martins CRF. Distribution of hepatitis C Virus Genotypes among blood donors from mid West region of Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2006;48(1):53-55.
2. Martins T, Narciso-Schiavon JL, Shiavon, LL. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite C. *Rev Assoc Med Bras*. 2011;57(1):107-112.
3. Ministério da Saúde, Brasil. Boletim Epidemiológico Hepatites Virais. Ano III, nº 1. 2012. 173p.
4. Mendes-Corrêa MCJ, Barone AA. Hepatitis C in patients co-infected with human immunodeficiency virus: a review and experience of a Brazilian ambulatory. *Rev Inst Med trop S Paulo*. 2005;47(2): 59-64.
5. Ministério da Saúde, Brasil. Boletim Epidemiológico HIV-AIDS. Ano III, nº 1. 2014. 82p.
6. Rockstroh, J.K. Should HIV/HCV Coinfected patients with severe hepatitis be treated for hepatitis C. *Presse Med*. 2005;34(20):1585-1588.
7. Hall CS, Charlebois ED, Hahn JÁ, Moss AR, Bangsberg DR. Hepatitis C virus infection in San Francisco's HIV-1-infected urban poor. *Int J Gen Med*. 2004:357-365.
8. Brasileiro-Filho G, Guimarães RC, Bogliolo L. Distúrbios do crescimento e da diferenciação celular. In: Brasileiro-Filho G, editor. *Patologia clínica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1998;148-92.
9. Da Silva GK, Vianna P, Veit TD, Crovella S, Catamo E, Cordero EA, Mattevi VS, Lazzaretti RK, Sprinz E, Kuhmmer R, Chies JA. Influence of HLA-G polymorphisms in human immunodeficiency virus infection and hepatitis C virus co-infection in Brazilian and Italian individuals. *Infect Genet Evol*. 2014; 21:418-23.

10. Ng WF, Zastawny RL, Venot-Drebot L, et al. Identification of members of the P-glycoprotein multigene family. *Mol Cell Biol.* 1989; 9:1224-1232.
11. Callen DF, Baker E, Simmers RN, Seshadri R, Roninson IB. Localization of the human multiple drug resistance gene, MDR1, to 7q21.1. *Hum Genet.* 1987;142-144.
12. Bodor M, Kelly EJ, Ho RJ. Characterization of the human MDR1 gene. *AAPS J.* 2005:01-05.
13. Chen CJ, Clark D, Ueda K, Pastan I, Gottesman MM, Roninson IB. Genomic organization of the human multidrug resistance (MDR1) gene and origin of P-glycoproteins. *J Biol Chem.* 1990;265(1):506-14.
14. Dean M, Rzhetsky A, Allikmets R. The human ATP-Binding Cassette (ABC) transporter Superfamily genome. 2001;(a):1156-1166.
15. Dean M, Hamon Y, Chimini G. The human ATP-Binding Cassette (ABC) transporter Superfamily J. *Lipid.* 2001;(b):1007-1017.
16. Van Helvoort A, Smith AJ, Sprong H, Fritzsche I, Schinkel AH, Borst P, Van Meer G. MDR1 P-Glycoprotein Is a Lipid Translocase of Broad Specificity, while MDR3 P-glycoprotein specifically translocates phosphatidylcholine. *Cell* 1996:507-517.
17. Hoffmeyer S, Burk O, Von Richter O, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug resistance gene: Multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci.* 2000;97:3473-3478.
18. Rose JE, Libbrecht L, Geuken M, Jansen PL, Roskams TA. High expression of MDR1,MRP1, and MRP3 in the hepatic progenitor cell compartment and hepatocytes in severe human liver disease. *J Pathol.* 2003; 200(12):553-60.

19. Timucin M, Alagozlu H, Ozdemir S, Ozdemir O. Association between ABCB1 (MDR1) Gene polymorphism and unresponsiveness combined therapy in chronic hepatitis C virus. *Hepat Mon.* 2012;13(4):27522.
20. Fellay J, Marzolini C, Meaden ER, Back DJ, Buclin T, Chave JP, Decosterd LA, Furrer H, Opravil M, Pantaleo G, Retelska D, Ruiz L, Schinkel AH, Vernazza P, Eap CB, Telenti A. Response to antiretroviral treatment in HIV-1-infected individuals with allelic variants of the multidrug resistance transporter 1: a pharmacogenetics study. *Lancet.* 2002; 359: 30-36.
21. Hulgán T, Donahue JP, Hawkins C, Unutmaz D, D'Aquila RT, Raffanti S. Implications of T-cell P-glycoprotein activity during HIV-1 infection and its therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2003;34:119-26.
22. Hoofnagle JH, Wahed AS, Brown RS, Jr., Howell CD, Belle SH. Early changes in hepatitis C virus (HCV) levels in response to peg-interferon and ribavirin treatment in patients with chronic HCV genotype 1 infection. *J infect Dis.* 2009;199(8): 1112-20.
23. Eicher C, Dewweth A, Kirchner B, Warmann SW, Fuchs J, Armeanuebinger S. Development of a drug resistance model for hepatoblastoma. *Int J Oncol.* 2011;38(2):447-54.
24. Yan PW, Huang XE, Yan F, Xu L, Jiang Y. Influence of MDR1 gene codon 3435 polymorphisms on outcome of platinum-based chemotherapy for advanced non small cell lung cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2011;12(9):2291-4.
25. Ameyaw MM, Regateiro F, Li T, Liu X, Tariq M, Mobarek A, Thornton N, Folyan GO, Githang'a J, Indalo A, Ofori-Adjei D, Price-Evans DA, McLeod HL. MDR1 pharmacogenetics: frequency of the C3435T mutation in exon 26 is significantly influenced by ethnicity. *Pharmacogenetics.* 2001;11:217-221.
26. Zhu P, Zhu Q, Zhang Y, Ma X, Li Z, Chen J, Luo L, Ring HZ, Ring Bz, Sul L. ABCB1 Variation and Treatment Response in AIDS Patients: Initial Results of the Henan Cohort. *PLoS ONE.* 2013;8(1):e55197.

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

No presente estudo, foi analisado o polimorfismo C3435T do gene *MDR1* em 98 pacientes coinfetados pelos vírus da hepatite C e da imunodeficiência humana (HCV-HIV). Alguns resultados relevantes foram encontrados:

- Considerando as frequências alélicas, para a variante polimórfica C o resultado foi de 52%, enquanto a frequência do alelo T foi de 48% dos casos estudados.

- Nos indivíduos considerados brancos, o genótipo mais encontrado foi o TC.

- Quando comparada as variáveis etnia, resposta ao tratamento para hepatite C e genótipo do gene *MDR1*, não observou-se relação significativa entre as variáveis.

- Os dados encontrados para resposta ao tratamento para hepatite C estão de acordo com os encontrados na literatura.

- Não foi possível comparar os genótipos do gene *MDR1* para resposta ao tratamento do HAART, devido à falta de dados.

Considerando os resultados encontrados, é evidente que estudos com um número maior de pacientes é necessário para que se possa obter resultados mais significativos e conclusões mais concisas. Desta forma, o estudo abre perspectivas de análises mais aprofundadas, não apenas com polimorfismos do gene *MDR1*, mas também com polimorfismos em outros genes que possam estar associados ao prognóstico e ao tratamento dessas infecções virais.