



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA

Fundada em 18 de fevereiro de 1808



Monografia

**Resistência à lamivudina no tratamento da hepatite B
crônica**

Alfredo Teixeira da Rocha Cardoso

Salvador (Bahia)
Março de 2013

Ficha catalográfica (elaborada pela Bibl. **SONIA ABREU**, da Bibliotheca Gonçalo Moniz:
Memória da Saúde Brasileira/SIBI-UFBA/FMB-UFBA)

Cardoso, Alfredo Teixeira da Rocha

C268 Resistência à lamivudina no tratamento da hepatite B crônica /
Alfredo Teixeira da Rocha Cardoso. Salvador: ATR, Cardoso, 2013.

xi; 52 p.

Monografia (Medicina), Universidade Federal da Bahia, Faculdade de
Medicina,

Salvador, 2013.

Orientador: Prof. Dr. André Castro Lyra.

1. Hepatite B. 2. Lamivudina – resistência. 3. Carcinoma
hepatocelular. I. Lyra, André Castro II. Universidade Federal da
Bahia. Faculdade de Medicina. III. Título.

CDU - 616.36-002



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA
Fundada em 18 de fevereiro de 1808



Monografia

Resistência à lamivudina no tratamento da hepatite B crônica

Alfredo Teixeira da Rocha Cardoso

Professor orientador: **André Castro Lyra**

Monografia de Conclusão do Componente Curricular MED-B60/2012.2, como pré-requisito obrigatório e parcial para conclusão do curso médico da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia, apresentada ao Colegiado do Curso de Graduação em Medicina.

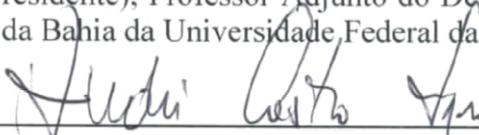
Salvador (Bahia)
Março de 2013

Monografia: *Resistência à lamivudina no tratamento da hepatite B crônica*, de **Alfredo Teixeira da Rocha Cardoso**.

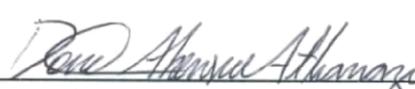
Professor orientador: **André Castro Lyra**

COMISSÃO REVISORA

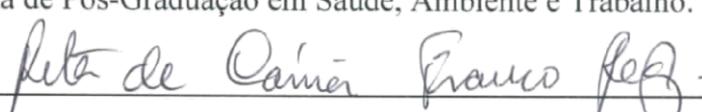
- **André Castro Lyra** (Presidente), Professor Adjunto do Departamento de Medicina da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.

Assinatura: 

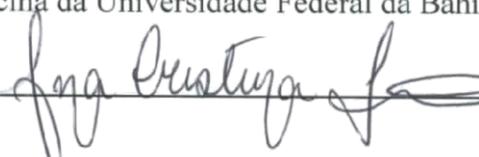
- **Daniel Abensur Athanzio**, Professor Adjunto do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia.

Assinatura: 

- **Rita de Cássia Franco Rêgo**, Professora Associada do Departamento de Medicina Preventiva e Social da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia e professora do programa de Pós-Graduação em Saúde, Ambiente e Trabalho.

Assinatura: 

- **Ana Cristina Feres**, Doutoranda do Programa de Pós graduação em Medicina e Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia.

Assinatura: 

Membro suplente

Genoile Oliveira Santana, Médica do Serviço de Gastroenterologia do Hospital Universitário Professor Edgard Santos (HUPES-UFBA) e Preceptora da Graduação, Internato e Residência de Medicina Interna e Gastroenterologia.

TERMO DE REGISTRO ACADÊMICO: Monografia avaliada pela Comissão Revisora, e julgada apta à apresentação pública no IV Seminário Estudantil de Pesquisa da Faculdade de Medicina da Bahia/UFBA, com posterior homologação do conceito final pela coordenação do Núcleo de Formação Científica e de MED-B60 (Monografia IV). Salvador (Bahia), em ___ de _____ de 2013.

“Com persistência, paciência e dedicação tudo é possível.
Não existe desafio maior do que você!” (*Alfredo Teixeira*)

Aos Meus Pais, **Florisvaldo Rocha e Eva Maria**. Aos meus irmãos, **Ricardo, Bruno e Isadora**. A minha namorada, **Hortência Orana**.

AGRADECIMENTOS

- ◆ A **Deus** pela capacitação e pela oportunidade.
- ◆ Ao meu Professor orientador, Doutor **André Castro Lyra**, pela presença constante e substantivas orientações acadêmicas e à minha vida profissional de futuro médico.
- ◆ Ao Professor Doutor **José Tavares Neto** pelo empenho como coordenador da monografia, sempre nos orientando, incentivando e cobrando empenho quando necessário.
- ◆ A minha colega **Tamires Couto Barbosa** pela colaboração e apoio durante os dois anos de elaboração deste trabalho.
- ◆ Aos Professores Doutor **Daniel Abensur Athanzio**, Doutora **Rita de Cássia Franco Rêgo** e a Pós-Graduanda **Ana Cristina Feres** por comporem à banca revisora, pelas críticas e sugestões ao trabalho colaborando com a qualidade do mesmo.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

VHB	Vírus da Hepatite B
CHC	Carcinoma Hepatocelular
PubMed	<i>Public Medical Literature Analysis and Retrieval System Online</i>
Scielo	<i>Scientific Electronic Library Online</i>
LMV	Lamivudina
HBsAg	Antígeno s da Hepatite B
HBcAg	Antígeno c da Hepatite B
HBeAg	Antígeno e da Hepatite B
Anti-HBs	Anticorpo contra o antígeno s da Hepatite B
HBxAg	Antígeno x da Hepatite B
ORF	Sequência de Leitura Aberta
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
VHC	Vírus da Hepatite C
DNA-VHB	Ácido desoxirribonucleico do vírus da Hepatite B
ALT	Alanintransferase
Anti-HBe	Anticorpo contra o antígeno e da Hepatite B
VHD	Vírus da Hepatite D
IgM	Imunoglobulina M
IgG	Imunoglobulina G
Anti-HBc	Anticorpo contra o antígeno c da Hepatite B
OMS	Organização Mundial de Saúde
VHB/A1	Vírus da Hepatite B genótipo A e subgenótipo 1
VHB/A2	Vírus da Hepatite B genótipo A e subgenótipo 2
VHB/A3	Vírus da Hepatite B genótipo A e subgenótipo 3

VHB/F1A	Vírus da Hepatite B genótipo F e subgenótipo 1A
VHB/F1B	Vírus da Hepatite B genótipo F e subgenótipo 1B
VHB/F2A	Vírus da Hepatite B genótipo F e subgenótipo 2A
VHB/F3	Vírus da Hepatite B genótipo F e subgenótipo 3
VHB/F4	Vírus da Hepatite B genótipo F e subgenótipo 4
VHB/B1	Vírus da Hepatite B genótipo B e subgenótipo B1
VHB/B2	Vírus da Hepatite B genótipo B e subgenótipo B1

ÍNDICE DE FIGURAS E TABELAS

TABELAS

Tabela 1. Taxa de resistência viral ao tratamento com LMV	43
---	----

ÍNDICE

I. RESUMO	12
II. ABSTRACT	13
III. INTRODUÇÃO	14
IV. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
IV. 1. Hepatite B	16
IV. 2. O vírus	17
IV. 3. Vias de transmissão	21
IV. 4. Aspectos clínicos	21
IV. 5. Diagnóstico laboratorial	24
IV. 6. Aspectos epidemiológicos	25
IV. 7. Genótipos e subgenótipos	28
IV. 8. Implicações clínicas dos genótipos e subgenótipos do VHB	29
IV. 9. Mutações na região pré-Core/Core	31
V. JUSTIFICATIVA	32
VI. OBJETIVO	33
VII. MATERIAIS E MÉTODOS	34
VII. RESULTADOS	35
VIII. CONCLUSÃO	47
IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

I. Resumo

Cardoso, ATR. **Resistência à Lamivudina no Tratamento da Hepatite B Crônica.** Salvador, 2013. Trabalho de Conclusão do Curso de Medicina da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.

A infecção crônica pelo vírus da Hepatite B permanece como um problema mundial de saúde pública, atingindo milhões de pessoas e sendo responsável pelo surgimento de complicações como cirrose hepática e carcinoma hepatocelular. A utilização de lamivudina no tratamento da hepatite B crônica, quando em uso por tempo prolongado, está associada ao surgimento de vírus da hepatite B mutantes resistentes a este medicamento, sendo a principal limitação do uso de lamivudina. Apesar dos programas de vacinação implantados e do surgimento dos análogos de nucleotídeos no combate a esta infecção, tendo reduzido bastante as taxas de prevalência desta infecção e das suas complicações, a hepatite viral B continua exigindo atenção dos profissionais da saúde. O objetivo deste projeto é fazer uma revisão de literatura sobre esta resistência desenvolvida pelo tratamento prolongado com lamivudina e quais as mutações são mais frequentemente associadas a esta resistência, abordando também estratégias de tratamento que previnem o surgimento destas mutações e o impacto destas na saúde pública.

Palavras chave: 1. Hepatite B. 2. Lamivudina – resistência. 3. Carcinoma hepatocelular.

II. Abstract

Cardoso, ATR. **Resistance to Lamivudine in the Treatment of Chronic Hepatitis B.** Salvador, 2013. Work Completion of Medical School Faculty of Medicine of Bahia Federal University of Bahia.

Chronic hepatitis B infection remains a public health problem worldwide, afflicting millions of people and is responsible for the development of complications such as liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. The utilization of lamivudine in the treatment of chronic hepatitis B, for a long time is associated with the emergence of viral hepatitis B resistant mutants to the drug, limiting its prescription. Despite the implementation of vaccination programs the emergence of nucleotide analogs against hepatitis B, and the decrease in the prevalence rates of this infection and its complications, viral hepatitis B continues to demand attention from health professionals. The objective of this project is to review the literature on the development of viral hepatitis B resistance by prolonged treatment with lamivudine and which mutations are most often associated with this resistance, also addressing treatment strategies that prevent the emergence of these mutations and their impact on public health.

Keywords: 1. Hepatitis B. 2. Lamivudine - resistance. 3. Hepatocellular carcinoma.

III. Introdução

A hepatite viral B é considerada um grave problema de saúde pública que atinge milhões de pessoas em todo o mundo. Apesar da distribuição mundial, ainda há uma prevalência significativa de portadores crônicos do vírus da hepatite B (VHB) em países em desenvolvimento. Estima-se que cerca de 40% da população mundial já teve contato com o VHB ou são portadores do mesmo. Cerca de 350 milhões de pessoas no mundo inteiro têm infecção crônica do fígado pelo VHB (1).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que a hepatite B crônica é responsável pela morte de cerca de 600.000 pessoas por ano em todo o mundo, tendo maior incidência e prevalência na Ásia, Pacífico Sul e África. No Brasil a região Amazônica brasileira, mais especificamente na Amazônia Ocidental, é a de maior incidência e prevalência da hepatite B crônica (2).

O VHB pertence à família *hepadnaviridae* e possui tropismo pela célula hepática. O genoma do VHB é constituído por ácido desoxirribonucleico (DNA), contendo 3.200 nucleotídeos, e replica-se por transcriptase reversa (2).

O VHB é transmitido principalmente por via vertical, sexual e parenteral, com predileção por infectar os hepatócitos, podendo levar a uma infecção aguda assintomática, hepatite aguda fulminante, hepatite crônica assintomática e infecção crônica ativa sintomática. Complicações graves da hepatite B são a sua associação com o surgimento de carcinoma hepatocelular e cirrose hepática (3).

Apesar da existência da vacina, eficaz contra o VHB, ainda não há o controle desta infecção e já se tem relatos na literatura de cepas de vírus portadores de mutações genéticas que surgiram por consequência da pressão seletiva exercida por estas vacinas, denominada mutantes de escape vacinal. Portanto, como consequência destes mutantes de escape vacinal, os pacientes que tomaram as três doses da vacina para hepatite B, e teoricamente desenvolveram imunidade para o VHB, não estão imunes a estes vírus mutantes, permanecendo assim vulneráveis (4).

Tratamentos efetivos têm sido desenvolvidos para controlar e prevenir a progressão da doença, objetivando reduzir a morbidade e a mortalidade. O objetivo do tratamento da infecção crônica pelo VHB visa cessar a replicação viral e proporcionar uma melhora da histopatologia hepática, reduzindo assim as chances de desenvolvimentos de

complicações tais como cirrose e carcinoma hepatocelular (CHC) e redução mortalidade associada à esta infecção (5).

A lamivudina (LMV) é um análogo de nucleotídeo sintético, utilizado no tratamento da HVB crônica, que suprime a replicação viral por inibição da atividade da polimerase viral. Embora a LMV seja um medicamento eficaz e bem tolerado, a duração do tratamento é longa e a resistência viral ao medicamento é frequente (5).

O surgimento dessa resistência à lamivudina tem sido uma das principais limitações do tratamento. Vários estudos avaliaram quais às mutações têm levado a esta resistência; estas parecem ocorrer no gene da polimerase do VHB. A mutação mais frequentemente associada à resistência que se desenvolve com o uso da LMV é tirosina-metionina-aspartato-aspartato, mutação YMDD, do gene da polimerase do VHB (5).

Existe uma relação diretamente proporcional entre a duração do tratamento e o surgimento de mutações que promovem resistência viral à LMV, pois o tratamento com LMV por cinco anos leva a uma taxa de resistência que pode atingir cerca de 80%. Esta elevada taxa de resistência à LMV levanta a questão sobre os riscos e benefícios de se utilizar esta droga no tratamento da hepatite B crônica (1).

IV. Fundamentação Teórica

IV. 1. Hepatite B

O VHB é considerado uma das principais causas de hepatite crônica, sendo superado apenas pela hepatite C, mas superando as hepatites crônicas pelo vírus D, hepatite auto-imune, de causa medicamentosa, esteato-hepatite alcoólica e não-alcoólica, doença de Wilson e hepatite criptogênica. O VHB está também associado à cirrose hepática e carcinoma hepatocelular (CHC), sendo, portanto, uma das doenças infecciosas mais importantes a nível mundial (1, 6).

O VHB é um vírus DNA pertencente à família *hepadnaviridae*. O diagnóstico da infecção crônica pelo VHB é suscitado baseando-se na presença do antígeno de superfície HBsAg no soro de um paciente por mais de 6 meses e confirmado pelo achado do DNA do VHB no soro do paciente infectado ou pela presença o antígeno central da hepatite B (HBcAg) no fígado (6).

Existem quatro fases de cronológicas de infecção pelo VHB, sendo elas em ordem: fase de tolerância imunológica, fase de depuração imunológica, fase inativa e reativação tardia da infecção (7).

A "fase de tolerância imunológica" é a primeira fase da infecção do VHB, sendo caracterizada por HBeAg positivo e alta viremia, podendo haver um mínimo ou até nenhum dano histológico ao fígado (7).

A "fase de depuração imunológica" é a segunda fase da infecção pelo VHB e é nesta fase que o sistema imunológico do hospedeiro reconhece o VHB com um organismo estranho invasor e provoca uma inflamação extensa dos hepatócitos (7).

A terceira fase é a "fase inativa", sendo caracterizada por pacientes anti-HBeAg positivos, com níveis sorológicos de alanina aminotransferases (ALT) persistentemente normais e presença de DNA-VHB em níveis baixos (< 2.000 UI / mL) (7).

A quarta fase, "reativação tardia", é caracterizada por uma reativação tardia da infecção pelo VHB, podendo provocar uma elevação persistente ou intermitente nos níveis séricos do DNA-VHB e da ALT, provocando um dano histológico hepático progressivo (7).

Estas quatro fases da infecção pelo VHB podem ocorrer tanto em sequência quanto pode haver pacientes que não apresentam todas as fases, por exemplo, pacientes HBeAg positivos e aqueles pacientes que permanecem por longos períodos

portadores inativos do HBsAg. No entanto, na maioria dos pacientes estas fases ocorrem em sequência (7).

A gravidade das lesões e a progressão da doença hepática parecem não estar diretamente relacionadas com o nível de vírus no soro ou com a expressão do antígeno no fígado, mas sim com a intensidade da resposta imunológica do hospedeiro ao VHB invasor. Esta resposta imunológica é mediada por células T citotóxicas antígeno-específica e outras células da resposta imune que possuem efeitos antivirais nos hepatócitos (6).

A infecção crônica surge por consequência da ausência de uma resposta vigorosa das células T citotóxicas antígeno-específicas aos antígenos do VHB. A soroconversão espontânea do HBeAg em anti-HBe durante a infecção crônica é frequentemente precedida por uma exacerbação transitória da doença por consequência de uma resposta imunológica contra o VHB (6).

Cepas de VHB menos imunogênicas ou mais resistentes ao ataque das células T podem ser mais patogênicas, sendo mais predispostas a causar uma infecção crônica no hospedeiro (6). Em recém-nascidos há cerca de 90% de chances de após a infecção pelo VHB acontecer o desenvolvimento de hepatite B crônica devido ao ainda ineficiente sistema imune do recém-nascido. Quando a faixa etária de infecção do hospedeiro se eleva para 5 anos de idade, há uma redução desta cronificação do VHB para 30 a 50% dos infectados, sendo que esta taxa pode atingir de 5 a 10% de chances de cronificação caso esta infecção ocorra em adultos (8).

A vacina contra o VHB já está disponível há quase 20 anos e se encontra em utilização nos países desenvolvidos, principalmente em áreas de infecções endêmicas como no caso da China que possui por volta de 120 milhões de portadores crônicos do VHB. No entanto, é importante salientar que a vacinação não é um tratamento para infecções previamente estabelecidas pelo VHB e o elevado custo dos programas de vacinação tem impedido que esta vacinação atinja países muito pobres onde as infecções por VHB são predominantes, atingindo cerca de 5 a 25% da população (9). No Brasil, a vacinação foi iniciada em 1989 na Amazônia Ocidental e era restrita às crianças com idade menor do que 10 anos de idade. Atualmente a vacina está disponível para todas as regiões do Brasil e abrange recém-nascidos, crianças e adolescentes entre um e 19 anos de idade e para todas as faixas etárias no caso de pessoas com maior exposição ao risco de contaminação pelo VHB (profissionais de saúde, vítimas de abuso sexual, profissionais do sexo entre outros) (8).

IV. 2. O vírus

O VHB é um vírus de DNA e sua infecção está associada frequentemente a hepatite crônica agressiva, cirrose hepática e carcinoma hepatocelular. Embora milhões de pessoas estejam cronicamente infectadas pelo VHB em todo mundo, a relação entre os níveis séricos de cargas virais e a resposta imune dos hospedeiros varia de acordo com o indivíduo, assim como a progressão da doença também sofre esta variação (10).

O VHB tem como hospedeiro natural o ser humano, mas alguns vírus similares ao VHB, constituídos também de DNA, foram isolados em outros animais, como por exemplo: marmotas (woodchuck hepatitis vírus), esquilos (ground squirrel hepatitis virus), patos (duck hepatitis B vírus), garças (heron hepatitis B vírus), gansos (goose hepatitis B vírus) e outros tipos de pássaros (crane hepatitis B) (2).

Além de ser o principal tipo de célula do fígado, o hepatócito é o principal alvo da infecção pelo VHB. Todos os membros desta família de vírus têm o hepatócito como o único local onde ocorre a replicação celular, apesar de que células epiteliais biliares ductais, um subconjunto de células no pâncreas, rins e sistema linfóide também podem ser um alvo da infecção pelo VHB (9).

Análises de microscopia eletrônica demonstraram que as células infectadas pelo VHB produzem diferentes tipos de partículas presentes no soro de pessoas infectadas pelo VHB: 1- Partículas infecciosas (Partículas de Dane) com 42 a 47 nanômetros (nm) de diâmetro, formadas pelo envelope e um nucleocapsídeo icosaédrico de 27 nm contendo a molécula de DNA e a polimerase viral; 2- Partículas incompletas esféricas de 17 a 25 nm e tamanho variável; 3- Partículas incompletas cilíndricas (tubulares) com cerca de 20 a 22 nm e tamanho variável (11).

O genoma do VHB expressa um pequeno repertório protéico com apenas 3kbp de comprimento. A replicação do DNA viral depende do núcleo e da ação da polimerase viral, já as proteínas no envelope viral são essenciais para o envolvimento do nucleocapsídeo. (9). Apenas as partículas completas são infecciosas, Partículas de Dane, portanto as partículas incompletas não possuem DNA, sendo constituídas apenas de envelope e conseqüentemente não são infecciosas (11).

O VHB possui um genoma com sobreposição de 4 quadro de leitura abertos onde vários genes se sobrepõem e utilizam do mesmo DNA para codificar as proteínas virais. O gene que codifica para o núcleo é o que dá origem a proteína do

nucleocapsídeo e ao antígeno “e” da hepatite B. Os genes que codificam para a superfície pré-S1, pré-S2 e proteína S, produzem proteínas de superfície de grande, médio e pequenas proteínas de superfície, respectivamente. O gene que codifica a proteína X pode estar relacionado a carcinogênese hepática. O gene da polimerase é responsável por dar origem à uma grande proteína com funções críticas para embalagem e replicação do DNA (incluindo primer, RNA e DNA polimerase e as atividades das RNAses) (12).

A proteína S é a principal do envelope do VHB, sendo também denominada de HBsAg. Esta proteína possui um epítopo principal ("a") contra o qual são direcionados os anticorpos neutralizantes Anti-HBs durante a resposta imunológica do hospedeiro (11).

A simples presença do antígeno de superfície HBsAg no soro de um paciente durante 6 meses ou mais já define a infecção crônica pelo VHB. Atualmente, ensaios comerciais podem detectar a presença do HBsAg no soro em quantidades pequenas, de poucos nanogramas por mililitros e, a maioria dos pacientes com infecção crônica pelo VHB tem títulos superiores a 1 ng por ml, o que facilita o diagnóstico (9).

A proteína HBcAg é a do nucleocapsídeo ou core viral, também conhecida como antígeno do core do VHB. Diferentemente da HBsAg, a proteína HBcAg não é encontrada habitualmente livre no soro de pacientes infectados pelo VHB, só podendo ser detectado como um componente interno das partículas de Dane. No entanto, o HBcAg também pode estar presente no núcleo ou no citoplasma do hepatócito, assim como também pode ser expresso na superfície desta célula (11).

Durante a infecção natural da hepatite B surgem mais dois produtos de genes são expressos, o HBxAg ou a proteína X da hepatite e o HBeAg ou antígeno "e" da hepatite (9). As funções tanto do HBeAg quanto do HBxAg ainda são desconhecidas. No entanto, o HBeAg tem grande importância na HVB pois é um marcador de alta replicação viral, sendo encontrado em forma solúvel no soro de pacientes infectados pelo VHB. O HBeAg não pode ser encontrado como parte de uma partícula viral. É importante ressaltar que apesar de o HBeAg ser um marcador de replicação viral, não se tem certeza que o vírus mantém-se sem replicar-se baseando-se apenas neste marcador pois já tem relatos de pacientes com mutantes do VHB que não produzem esta proteína (11).

A DNA polimerase viral é uma proteína não estrutural responsável por participar da replicação do VHB (11). Em sua estrutura, a DNA polimerase apresenta 4 domínios distintos e bem definidos: 1- Domínio amino-terminal que é responsável por iniciar

a síntese de polaridade negativa do VHB, atuando como uma proteína terminal ou primase, ligando-se a extremidade 5' do DNA viral para o início da síntese; 2- Domínio espaçador que ainda possui uma função específica conhecida; 3- Domínio da DNA polimerase, esse é o domínio que é responsável pela transcriptase reversa; 4- Domínio carboxi-terminal, atuando como RNase H, sendo responsável pela clivagem de RNA apresentando na forma de híbrido com DNA (13).

A caracterização do ciclo de vida do hepadnavírus passa pela formação de um genoma de DNA circular, com cadeia parcialmente dupla, acontecendo por transcrição reversa, que é um processo onde se usa o progenoma, um intermediário de RNA, para síntese de DNA. Este mecanismo onde o RNA dirige a síntese de DNA já está bem descrito na literatura por meio de estudos genéticos e bioquímicos (9).

No genoma do VHB existe a sobreposição de quatro quadros de leitura nos quais são responsáveis pela síntese das proteínas da polimerase, Core, X e envelope do VHB. As regiões pré-S1, pré-S2 e S são três locais de tradução diferentes, em uma única estrutura de leitura aberta, que são responsáveis pela síntese das proteínas do envelope viral, dando origem a três formas distintas de HBsAg (grandes, médias e pequenas) (1).

O HBsAg é a principal proteína do envelope do VHB, sendo constituída por 226 aminoácidos e partículas de unidades de brotamento. A proteína M é composta pelos 226 aminoácidos da proteína S somados a mais 55 aminoácidos. A proteína L é a proteína M somada á 108 ou 119 aminoácidos ligados ao N-terminal (1).

O VHB possui quatro regiões codificantes restritas a fita L, responsáveis por codificar todas as proteínas do vírus. Estas regiões codificantes da fita L são denominadas Pré-Core/Core, Pré-S/S, X e Polimerase, sendo que cada uma dessas regiões codificantes codificam para uma determinada proteína. As proteínas HBcAg e HBeAg são codificadas na região Pré-Core/Core da fita L, enquanto que a região Pré-S/S codifica para as três proteínas do envelope viral, sendo dividida em pré-S1, pré-S2 e S. A proteína HBxAg é codificada pela região X e a região P é responsável por codificar a polimerase viral (11).

Existem variabilidades em forma de deleções, inserções e substituições nucleotídicas no genoma do VHB. A região com maior variabilidade no genoma é a região pré-S1 e pré-S2, responsável por codificar os epítomos T de células B, permitindo a ligação dos anticorpos neutralizantes e conseqüentemente uma proteção imunitária. A grande importância do conhecimento desta variabilidade nesta região do genoma do VHB é

justamente relacionada ao surgimento de mutantes pré-S resistentes que surgem como resultado de uma pressão seletiva imunológica (1).

O genoma do VHB não possui regiões não codificantes de proteínas, possuindo todos os elementos regulatórios localizados em regiões codificantes. É sabido também que além de um genoma compacto, o VHB possui sobreposição parcial de todas as sequências de leitura aberta (ORFs), codificando mais de uma proteína a partir de uma única ORF (11).

IV. 3. Vias de transmissão

Existem várias formas de transmissão do VHB, podendo ser por via parenteral (transfusional, antes da instituição da triagem em bancos de sangue; compartilhamento de agulhas, seringas ou outros equipamentos contendo sangue contaminado; procedimentos médico/odontológicos com sangue contaminado; sem esterilização adequada dos instrumentais; realização de tatuagens e colocação de piercings), por via sexual (relações sem uso de preservativos), vertical (sobretudo durante o parto, pela exposição do recém-nascido a sangue ou líquido amniótico e, também, mais raramente, por transmissão transplacentária) e por meio de solução de continuidade (pele e mucosa) (12).

Além destas já citadas acima, há evidências preliminares que sugerem a possibilidade de transmissão do VHB por meio de compartilhamento de instrumentos de manicure, escovas de dente, lâminas de barbear ou de depilar, canudo de cocaína, cachimbo de crack, entre outros (12).

O VHB é cerca de 100 vezes mais infectante do que o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e 10 vezes mais do que o vírus da hepatite C (VHC). Tanto o sangue quanto os outros líquidos orgânicos de uma pessoa portadora do VHB já podem ser infectantes em até três semanas antes de surgirem os primeiros sinais e sintomas no indivíduo portador do VHB, mantendo-se infectante durante a fase aguda da hepatite B (8).

IV. 4. Aspectos clínicos

O curso da infecção pelo VHB depende de um leque de fatores que estão relacionados a resposta imunológica do hospedeiro contra o vírus. O período de incubação do vírus varia entre 30 a 180 dias, sendo em média entre 60 e 90 dias. Existe vários fatores que

influenciam a resposta imunológica contra o VHB, por exemplo, a idade do paciente no momento da infecção, fatores genéticos do hospedeiro e a própria variabilidade genética do vírus podem influenciar como repercutir essa infecção do VHB no paciente (14).

A taxa de replicação do VHB nos hepatócitos está estimada em torno de 10×10^{11} (100.000.000.000 cópias m/l) x por dia, podendo sobreviver entre 10 a 100 dias. O VHB pode sobreviver até uma semana fora do corpo humano, sendo que no plasma sanguíneo a vida média do mesmo varia entre 1 a 3 dias (2).

A partir do momento da infecção pelo VHB o indivíduo pode evoluir para três principais formas, a depender dos fatores citados anteriormente (idade, fatores genéticos do hospedeiro e variabilidade genética do vírus), podendo ser: 1- hepatite fulminante, que é uma forma rara de hepatite, mas quando presente é de elevada gravidade e letalidade; 2- cura, com recuperação completa do indivíduo e ainda o desenvolvimento de imunidade contra o VHB (anti-HBs), após infecção aguda sintomática ou assintomática; 3- infecção crônica, persistência do VHB no hospedeiro por mais de 6 meses, com diversas formas de acometimento clínico (14).

A infecção crônica pelo VHB selvagem é caracterizada pela persistência do HBsAg, HBeAg e altos títulos do DNA-VHB por mais de seis meses (2). A cirrose hepática é uma consequência da infecção crônica pelo VHB, possuindo incidência anual variando entre 2 a 6% em pacientes com hepatite B crônica HBeAg positivos e de 8 a 10% nos pacientes com hepatite B crônica HBeAg negativos (2).

Além da idade, outros fatores também podem influenciar no prognóstico desta progressão da hepatite B para cirrose hepática, como por exemplo: sexo masculino; idade maior que 35 anos; gravidade da atividade necroinflamatória (histológica); positividade para o HBeAg; mutação pré-Core; níveis séricos elevados de ALT; episódios recorrentes exacerbação aguda da infecção, com formação de necrose hepática em ponte; flutuação dos níveis de replicação do VHB em pacientes HBeAg negativos; VHB genótipo C; níveis séricos de DNA-VHB elevados; coinfeção ou superinfecção aguda viral (VHC, vírus da hepatite D, HIV, parvovírus B19); uso crônico de bebidas alcoólicas; tabagismo crônico; relações sexuais homossexuais masculinas com portador do VHB ou HIV reativo (2).

Outra complicação da infecção pelo VHB é a formação de CHC, tendo como principais fatores de risco: sexo masculino; histórico familiar de CHC; idade superior a 45 anos; HBeAg positiva em pacientes com idade superior a 40 anos; história de soroconversão de anti-HBe para HBeAg; integração do DNA-VHB no genoma do hospedeiro;

influência dos genótipos do VHB; mutações no genoma do VHB; ingestão de alimentos contendo aflatoxinas; presença de cirrose hepática; coinfeção VHB-VHC ou VHB-VHD; e uso de álcool (2).

O hepatócito possui uma meia vida em média de 6 a 12 meses e, além de ser o tipo principal de célula do fígado é também o principal alvo do VHB e local onde ocorre a replicação viral. A disseminação viral acontece por via da circulação sanguínea, onde os VHB são continuamente eliminados (9).

Para que uma infecção crônica pelo VHB se concretize é necessário que ocorra a combinação de alguns fatores como, por exemplo, uma longa vida dos hepatócitos, uma interação celular estável entre VHB e hospedeiro e principalmente a ausência de uma resposta imune robusta que seja capaz de eliminar o vírus. Apesar da importância desta resposta imune robusta, uma exacerbação desta resposta pode induzir à uma elevada destruição dos hepatócitos, levando a danos hepáticos como por exemplo: a formação de cicatrizes, a interrupção do fluxo sanguíneo e obstrução da drenagem biliar e, mesmo com essa exacerbação da resposta a eliminação da infecção pelo VHB pode não acontecer (9).

Ainda não se sabe ao certo o motivo de alguns hospedeiros não conseguirem desenvolver uma resposta imunológica capaz de eliminar o VHB e acabarem se tornando portadores crônicos do mesmo. Outro questionamento é o porquê de às vezes a eliminação da infecção pelo VHB acontecer de forma espontânea em alguns casos, mesmo após o paciente ficar por muitos anos infectados pelo vírus. Portanto, as pesquisas sobre o VHB visam entender estas interações entre VHB e hospedeiro que irão determinar se uma infecção pelo mesmo irá ser eliminada ou persistir e se cronificar. (9).

IV. 5. Diagnóstico laboratorial

O primeiro marcador sorológico a surgir na infecção primária pelo VHB é a proteína HBsAg, podendo ser detectado no sangue após um período de 4 a 12 semanas de incubação. Os antígenos centrais do VHB (anti-HBc IgM e IgG) surgem logo em seguida ao HBsAg mas não podem ser detectados no soro dos pacientes infectados pelo VHB. O antígeno "e" do VHB (HBeAg) surge concomitantemente ao HBsAg e, normalmente, desaparece em cerca de 15 dias (2).

Além de indicar replicação viral, o HBeAg pode ser um marcador útil do risco de CHC pois, pessoas com HBeAg positivos são consideradas de alto risco para

desenvolvimento de CHC. É importante que pacientes HBeAg positivo inicie o tratamento com drogas antivirais e sejam acompanhadas de perto pelo médico por conta do risco elevado de desenvolvimento de doenças hepáticas associadas à HVB crônica, como CHC e cirrose hepática (15).

Se houver uma persistência de positividade do HBeAg maior do que 8 a 10 semanas no soro do paciente com hepatite B, após o surgimento dos sintomas da doença, pode ser um indicativo que esta infecção irá evoluir para uma hepatite B crônica. Quando no caso de HBeAg positivo no soro de pacientes com HVB crônica indica replicação viral e consequentemente hepatite B crônica ativa (16).

O aparecimento do HBsAg no soro pode estar indicando que concomitantemente está ocorrendo uma elevação da taxa de replicação viral, levando consequentemente à uma alta viremia do VHB. A elevação dos níveis séricos das aminotransferases só acontece na fase aguda após a infecção pelo VHB já estiver devidamente estabelecida, quando já se tem uma resposta imune pelas células T (2).

O terceiro marcador a aparecer no curso de uma infecção pelo VHB é o anticorpo IgM contra o antígeno do core do VHB (anti-HBc IgM), e a sua presença indica infecção recente pelo vírus. No caso da presença do anticorpo IgG contra o antígeno do core do VHB (anti-HBc IgG) é um indicativo de infecção passada pelo VHB, porém não é um anticorpo neutralizante como no caso do anti-HBs que indica imunidade ao VHB (16).

O surgimento do anti-HBs no soro dos pacientes infectados e o desaparecimento dos antígenos virais HBsAg e HBeAg indica que houve uma resolução da infecção pelo VHB. No entanto, apesar da resolução da infecção com o surgimento do anti-HBs, alguns pacientes persistem com títulos positivos de DNA-VHB por um longo período de tempo, podendo perdurar por toda a vida do paciente (2).

Existe um período conhecido como janela imunológica em que o paciente é infectado pelo VHB mas não se consegue detectar nem o HBsAg e nem o anti-HBs, o que justifica a presença de um pequeno grupo de pacientes com HVB aguda HBsAg negativo. O anti-HBc IgM é importante no auxílio diagnóstico da fase aguda da infecção assim como o anti-HBc IgG é um importante marcador clínico e epidemiológico desta infecção. Estes dois marcadores, o anti-HBc IgM e IgG, são frequentemente encontrados durante a janela imunológica (16).

Entre portadores crônicos do VHB, com HBsAg persistente no soro por mais de seis meses, a presença de HBeAg positivo está relacionado à alta replicação viral. No

entanto, alguns pacientes possuem alta replicação viral sem possuir HBeAg positivo no soro. Portanto, a ausência sorológica do HBeAg não pode definir que não está acontecendo a replicação viral. O mutante pré-Core tem como característica ser HBeAg negativo e anti-HBe positivo e mesmo assim podem apresentar intensa replicação viral. A presença do anti-HBe teoricamente indicaria soroconversão do HBeAg mas na prática não existe essa certeza da soroconversão pois podemos estar diante de um mutante pré-Core (2).

Não há possibilidade de se diferenciar sorologicamente um portador inativo do VHB de um portador do VHB mutante pré-Core apenas avaliando HBsAg e anti-HBe, por isso é necessário se quantificar o DNA-VHB para se ter certeza de que o VHB está ou não se replicando. A depender dos níveis sorológicos de DNA-VHB encontrados no paciente com hepatite B crônica, deve-se indicar a biópsia hepática. Tanto em pacientes portadores inativos do VHB quanto em pacientes portadores do VHB mutante pré-Core a ALT não serve como parâmetro no diagnóstico diferencial sorológico, pois seus níveis permanecem normais ou podem apresentar aumentos intermitentes (2).

IV. 6. Aspectos Epidemiológicos

A hepatite B crônica é considerada uma das principais causas de morte evitável em todo mundo. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que cerca de 2 bilhões de pessoas no mundo foram infectadas pelo VHB e que cerca de 350 milhões de pessoas são portadores do VHB, sendo que cerca de 600 mil pessoas infectadas pelo VHB morrem por ano de complicações decorrente dessa infecção, como por exemplo cirrose hepática ou carcinoma hepatocelular (17).

Existem alguns critérios para se classificar a endemicidade da infecção pelo VHB. Nos casos onde a prevalência do HBsAg é superior a 7% ou onde 60% ou mais da população possui evidência sorológica de infecção prévia pelo VHB, são consideradas como regiões de alta endemicidade. Países como a África, Norte da América do Sul, Sudeste da Ásia, China, partes do Oriente Médio e ilhas do pacífico são regiões que se enquadram nos critérios descritos acima e são classificadas como países de alta endemicidade para hepatite B (18).

As regiões consideradas de endemicidade intermediária para hepatite B são o Leste Europeu e os países europeus do Mediterrâneo, parte da América do Sul, Oriente Médio e Rússia. Estes países se enquadram nesta categoria de endemicidade intermediária por

terem prevalência de infecção pelo VHB variando em torno de 2 a 7% com menos de 60% da população apresentando histórico sorológico (18).

Países de endemicidade baixa são aqueles em que a prevalência de infecção pelo VHB é menor do que 2% e cerca de 10% da população apresenta histórico sorológico do VHB. Se enquadram neste perfil epidemiológico a América do Norte, a Europa Ocidental e a Austrália. Nesses países a infecção neonatal e na infância atinge taxas muito baixas, sendo que os grupos de alto risco para infecção pelo VHB são os usuários de drogas injetáveis, homossexuais masculinos, profissionais da área de saúde, e pacientes em hemodiálise (18).

Por ser um país de grande extensão territorial, o Brasil possui variações entre as taxas de endemicidades de acordo com cada região. Podemos encontrar dentro do país áreas de alta, média e baixa endemicidade para infecção pelo VHB, a depender de características como condições socioeconômicas, culturais e nível educacional. A região Sul do Brasil é tida como uma área de baixa endemicidade, enquanto as regiões Centro-Oeste, Nordeste e Sudeste são consideradas como áreas de endemicidade intermediária. As regiões do País com mais elevada prevalência de infecção pelo VHB são a Amazônia Legal, com uma taxa de 8%, o Espírito Santo e o Oeste do estado de Santa Catarina, sendo áreas consideradas de alta endemicidade (18).

A taxa de letalidade pela hepatite B crônica em pacientes hospitalizados varia entre 0,8 a 2%, sendo que em pacientes com idade superior a 40 anos temos uma elevação desta taxa, principalmente quando acontece uma coinfeção VHB e VHD. A nível nacional esta taxa de mortalidade é um pouco mais baixa que a taxa geral, atingindo cerca de 0,6 por 100.000 habitantes (18).

Com o objetivo de reduzir as taxas de infecção pelo VHB a vacina contra a hepatite B está disponível desde 1982, sendo eficaz na prevenção da infecção crônica pelo VHB e reduz a incidência de suas complicações como cirrose hepática e CHC. A vacina está indicada para todos aqueles indivíduos que ainda são suscetíveis à infecção pelo VHB, sem restrições de idade, e também para pessoas que vão viajar para regiões de alta endemicidade por conta do risco elevado de contaminação (18).

Em regiões de moderada à alta endemicidade, ou seja, com prevalência de infecção crônica pelo VHB maior do que 2%, há a recomendação por parte da OMS que a seja realizada a vacinação precoce infantil no intuito de reduzir os riscos dessas crianças de desenvolverem uma hepatite B crônica, pois já é sabido que crianças infectadas pelo VHB possuem uma alta probabilidade de cronificar. No caso de regiões de baixa endemicidade,

com taxa de prevalência inferior a 2%, a OMS recomenda que seja feita uma triagem em gestantes e no caso de a mãe estar infectada pelo VHB deve ser feita a vacinação do filho, considerando que para o estado é mais barato se fazer a triagem em regiões de baixa endemicidade do que vacinar todas as crianças (18).

No Brasil, o esquema de vacinação para hepatite B, se iniciou apenas em regiões de elevada endemicidade como no caso da Amazônia Legal e gradualmente foi sendo implantada nas diferentes regiões e hoje faz parte do calendário vacinal de todas as crianças, num esquema de vacinação em três doses. Após a implementação da vacina contra o VHB notou-se um declínio nas taxas de infecção pelo VHB nas diferentes regiões brasileiras. No estado do Amazonas, por exemplo, na região da Labrea houve um declínio nas taxas de portadores do VHB de 15,3% em 1988 para 3,3% em 2000, o que sugere o sucesso da vacina na prevenção da hepatite B (19).

Essa redução das taxas de infecção pelo VHB verificada no estado do Amazonas também foi percebida em outras regiões do país. No Mato Grosso houve uma redução de infecção crônica pelo VHB 10,4% para 2% (20). No estado do Acre foi relatado em um estudo de base populacional que a taxa de infecção pelo VHB já se encontra em níveis baixos na maioria dos municípios do estado, em torno de 3,3% de infectados (21). No sudeste do Pará, analisando a população indígena, um estudo relatou que houve uma redução significativa na prevalência de infecção crônica pelo VHB entre indivíduos da faixa etária de 1 a 14 anos (22).

A implementação da vacina contra o VHB foi um marco na prevenção da infecção crônica pelo VHB, pois tem-se mostrado eficiente e reduziu significativamente as taxas de infecção onde essa vacinação foi efetiva. No entanto, a hepatite B ainda é um grave problema de saúde pública a nível nacional e mundial, sendo que ainda há um nível considerável de indivíduos que são portadores crônicos do VHB e que estão vulneráveis à desenvolver complicações decorrentes desta infecção como hepatite, cirrose hepática e CHC (18).

IV. 7. Genótipos e subgenótipos

O VHB possui uma variação considerável em seu genoma e isto lhe permite ser subdividido em genótipos e subgenótipos. Os critérios para classificar os genótipos do VHB passam por uma divergência no genoma viral maior do que 8%, ou seja, se

8% da sequência completa de nucleotídeos do genoma do VHB estiver divergindo este VHB é classificado como de um determinado genótipo. Até então, existem, pelo menos, 8 genótipos do VHB (A, B, C, D, E, F, G e H) conhecidos, sendo que mais 2 (I, J) estão sendo considerados. Estes genótipos são ainda subdivididos em subgenótipos, divisão esta que também se baseia na variação do genoma viral. Quando um VHB de um determinado genótipo apresenta uma variação maior do que 4% e menor que 8%, dentro do seu próprio genótipo, este é considerado um subgenótipo daquele genótipo em questão. Como exemplo podemos citar os VHB genótipo B, C e D que possuem cinco subgenótipos cada, variando de B1 a B5, C1 a C5 e D1 a D5 (23).

Estes genótipos e subgenótipos do VHB variam em sua distribuição geográfica, sendo determinados os mesmos podem ser mais frequentes em determinadas regiões do que em outras. Esta variação geográfica tem sido valiosa para traçar a evolução molecular do VHB e os padrões de propagação do VHB (24).

O VHB genótipo A é subdividido em três subgenótipos VHB/A1, VHB/A2 e VHB/A3 sendo encontrado mais frequentemente na Europa, Índia, África e Américas. O VHB/A1 foi encontrado em populações descendentes de países africanos, o VHB/A2 tem origem europeia, enquanto o VHB/A3 é encontrado na África Central e Ocidental (25).

Os genótipos B e C do VHB são mais prevalentes na China, Japão e Sudeste Asiático. O VHB genótipo D possui uma maior distribuição geográfica, mas, no entanto, tem maior incidência no Mediterrâneo e no Oriente Médio. Já o genótipo E do VHB é mais prevalente na África Ocidental, enquanto o F do VHB é encontrado nas populações indígenas da América Central e do Sul. O México e América Central são as regiões de maior incidência do genótipo H (25).

O genótipo G do VHB é encontrado na França, Estados Unidos e México. O genótipo G possui vias de transmissibilidade e difusão particulares, sendo encontrado em frequência significativamente alta em homens mexicanos que mantêm relações homossexuais com homens. Além desta particularidade, o genótipo G do VHB normalmente é encontrado em coinfeção com o genótipo A do VHB ou em menor frequência com o VHB genótipo H (25).

Os genótipos do VHB mais prevalentes no Brasil são o A (VHB/A1 é o mais frequente no Brasil), D e F (25). O genótipo F é considerado prevalente nas populações nativas das américas (Alasca e Amazônia) (26). Os subgenótipos do genótipo F do VHB estão distribuídos geograficamente da seguinte forma: VHB/F1A (América Central), VHB/F1B

(Argentina), VHB/F2A (Brasil, Venezuela e Argentina), VHB/F2B (Venezuela), VHB/F3 (Venezuela e Colômbia) e F4 (Argentina) (27).

IV. 8. Implicações clínicas dos genótipos e subgenótipos do VHB

Além da sua distribuição geográfica distinta, os genótipos do VHB respondem de formas diferentes quando em uma infecção. Portanto, os genótipos do VHB podem influenciar na progressão da doença e no tratamento de pacientes portadores de infecção crônica pelo VHB (28).

Os genótipos do VHB possuem diferenças estruturais e funcionais que podem influenciar o curso da gravidade, a probabilidade de complicações como cirrose hepática e CHC, resposta ao tratamento como, por exemplo, o desenvolvimento de resistência ao tratamento com análogos de nucleotídeos e, eventualmente, influenciam na vacinação contra o vírus (24).

Alguns estudos demonstram que na Ásia Oriental, os genótipos B e C do VHB, além de serem os mais prevalentes nesta região, também apresentam um prognóstico desfavorável em relação a outros genótipos, com uma maior frequência de progressão para cirrose hepática e CHC (29). Um outro estudo realizado na Tailândia demonstra que o genótipo C do VHB está mais frequentemente associado a doenças graves do fígado quando em comparação ao genótipo B (28). Um estudo Chinês também relata que as infecções por genótipo C são mais graves do que as infecções por genótipo B (29).

Além da maior associação com cirrose hepática e CHC, o genótipo C do VHB também está associado a uma menor taxa de soroconversão de HBeAg em anti-HBe na HVB, ou seja, quando o VHB genótipo C está se replicando ativamente ele terá uma probabilidade menor em parar sua replicação e se inativar do que os outros genótipos do VHB (28). O genótipo C do VHB portanto, está associado com uma doença mais agressiva quando na fase replicativa, HBeAg positivo, do que o genótipo B, contribuindo assim para um maior risco de desenvolvimento do CHC (30).

Um estudo observou que no norte do Taiwan que esta afirmação de que o genótipo C do VHB está mais associado ao desenvolvimento de cirrose hepática e CHC é parcialmente verdade, pois depende da faixa etária do hospedeiro. Neste estudo, o genótipo B do VHB teve uma maior associação com o desenvolvimento de CHC do que em pacientes infectados pelo genótipo C do VHB, quando na faixa etária de menos de 35 anos de idade.

Quando esta faixa etária sobe para maiores de 50 anos de idade já há uma maior associação entre genótipo C e VHB. No entanto, estudos subsequentes no sul do Taiwan e no Japão não conseguiram confirmar estas observações no estudo realizado no norte do Taiwan (28).

Alguns estudos que compararam os genótipos A e D do VHB relataram uma maior evolução para cronicidade por parte do genótipo A do VHB (31). No entanto, um estudo realizado na Espanha observou que pacientes infectados com o genótipo A do VHB possuem um clareamento viral significativamente maior do que quando se analisa os outros genótipos do VHB (32).

Quando se compara os subgenótipos do VHB não se tem nada significativamente relevante em relação a evolução da doença ou resposta ao tratamento para a grande maioria dos subgenótipos, diferentemente do que acontece com os genótipos do VHB. Uma exceção a regra os subgenótipos do VHB genótipo B, o VHB/B1 e VHB/B2, pois o subgenótipo B2 está associado a uma evolução mais precoce para CHC do que o subgenótipo B1 do VHB (33).

Os diversos tipos de genótipos do VHB também estão relacionados a resposta terapêutica do VHB a diferentes medicamentos, por exemplo, lamivudina, interferon convencional ou peguilhado e adefovir (28, 34, 35, 36, 37, 38).

IV. 9. Mutações na região pré-Core/Core

Dentre as mutações no genoma do VHB, a mutação na região pré-Core/Core tem sido bem descrita na literatura e está associada ao desenvolvimento de cepas do VHB que conseguem escapar da resposta imunológica do hospedeiro. Os VHB portadores desta mutação na região pré-Core/Core parecem fugir tanto da resposta humoral quanto da celular, levando a uma maior taxa de progressão para infecção crônica do que os VHB selvagens (10).

As duas mutações na região pré-Core/Core que já estão bem definidas na literatura incluem uma mutação do códon de parada de nucleotídeo 1896 ou códon 28 e a mutação no promotor núcleo basal ou nucleotídeo 1764. A primeira mutação, quando presente, está associada a não expressão viral de HBeAg, resultando em uma infecção onde só é possível se detectar se o VHB está se replicando se for dosado o DNA-VHB. Já a mutação no promotor núcleo basal está associada a uma expressão diminuída de HBeAg e uma resposta imune do hospedeiro exacerbada (12).

Apesar de o papel o marcador sorológico de replicação do VHB, o HBeAg, ainda não ser totalmente compreendido, já se tem convicção de ele não é essencial para a replicação viral, secreção ou infectividade. Geralmente, quando o VHB se replica, o HBeAg pode ser encontrada no soro do paciente infectado. Por ser uma proteína muito imunogênica, o hospedeiro muitas vezes produz uma forte resposta imune, produzindo o anticorpo contra a proteína é (anti-HBe) no sentido de eliminar o VHB. Consequentemente, essa forte resposta imunológica promove elevação das enzimas hepáticas e diminuição da replicação viral. No entanto, como prova de que a proteína HBeAg não é essencial para a replicação viral, essa inibição da replicação do VHB pode acontecer sem que haja a soroconversão para anti-HBe (39).

Durante muito tempo, a soroconversão do HBeAg para anti-HBe era tido como um marcador do fim da replicação viral ativa e consequente resolução da infecção pelo VHB. No entanto, estudos mais recentes já descrevem doentes infectados por cepas de VHB em que mesmo após a soroconversão para anti-HBe positivo a replicação viral permanece ativa e não existe a resolução da hepatite B (39).

V. Justificativa

A LMV é um análogo de nucleotídeo utilizado desde a década de 1990 para tratamento de pacientes infectados cronicamente pelo VHB. Apesar do surgimento de novas drogas contra a hepatite B, a LMV ainda é utilizada por vários pacientes em diferentes regiões do país. Apesar dos grandes benefícios obtidos com o tratamento à base de LMV, o uso crônico deste medicamento pode induzir a formação de VHB mutantes resistentes à droga.

O objetivo deste trabalho é fazer uma revisão de literatura sobre o desenvolvimento de resistência pelo VHB à LMV, as mutações mais frequentes e em quais regiões do gene surgem, as quais genótipos estão associadas, e suas implicações clínicas incluindo progressão da doença.

VI. Objetivo

Realizar uma revisão bibliográfica sobre o desenvolvimento de resistência viral à lamivudina durante o tratamento prolongado com a droga em pacientes portadores de hepatite crônica B.

Esta revisão abrange tanto aspectos clínicos e epidemiológicos da doença até as características genéticas do vírus e as mutações que induzem esta resistência à lamivudina.

VII. Materiais e Métodos

Foi realizado um estudo com dados secundários, obtidos por via de revisão de literatura através de uma procura ativa de artigos originais em periódicos indexados nas seguintes bases de dados: PubMed (*Public Medical Literature Analysis and Retrieval System Online*), Scielo (*Scientific Eletronic Library Online*) e Lilacs (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde), relacionados a resistência viral à LMV no tratamento da HVB crônica.

Este estudo é uma revisão de literatura narrativa. A pesquisa inclui artigos publicados entre os anos de 1984 e 2012, sendo selecionados apenas os periódicos indexados nas bases de dados supracitadas (PubMed, Scielo e Lilacs), com restrição da pesquisa apenas para artigos publicados na língua inglesa ou portuguesa e que o acesso a estes artigos eram gratuitamente disponíveis.

Foram critérios de exclusão, artigos não indexados no PubMed, Scielo e Lilacs, artigos que não foram publicados na língua inglesa ou portuguesa e artigos aos quais o acesso só era liberado mediante pagamento à revista que publicou.

Para a busca ativa dos artigos nos periódicos foram utilizados os seguintes descritores: “hepatitis B vírus”; “chronic hepatitis b”; “hepatitis b virus and pathogenicity”; “viral hepatitis and epidemiological and preventive aspects”; “hepatitis b and pathology”; “chronic hepatitis”; “hepatitis b surface antigens”; “diagnosis of hepatitis B”; “prevalence of hepatitis b”; “epidemiology of hepatitis b”; “hepatitis b virus genetics”; “hepatitis b virus subgenotype”; “hepatitis b chronic genetics”; “hepatitis b virus mutation”; “hepatitis b virus recombination genetic”; “hepatitis b virus antigenic variation”; “hepatitis b virus and drug resistance”; “hepatitis b virus and lamivudine”; “hepatitis b and viral polymerase mutations”; “hepatitis b virus and therapeutic lamivudine”.

Foram pesquisados 107 artigos nas bases de dados supracitadas, restritos à língua inglesa ou portuguesa, sendo descartados 12 artigos por não estarem disponíveis na íntegra, 43 artigos foram descartados após a leitura dos resumos e selecionados 52 artigos para esta revisão de literatura por estarem de acordo com os objetivos do estudo.

VIII. Resultados

Tratamento da Hepatite Crônica B

O tratamento da hepatite B crônica visa alcançar a supressão contínua da replicação do VHB, evitar a remissão hepatite B e conseqüentemente reduzir os danos hepáticos como, por exemplo, a cirrose hepática e o carcinoma hepatocelular. No entanto, o tratamento da hepatite B crônica depende não apenas do medicamento, mas também de fatores como o estágio da doença, se está ou não presente no soro do paciente o antígeno "e", qual o potencial de resistência do VHB ao medicamento e a subsequente incapacidade de utilização do medicamento pelo paciente (40).

Por conseqüência da elevada incidência de resistência à LMV novas drogas surgiram no mercado, sendo que hoje já se tem 7 medicamentos que são aprovados para a terapia viral, são eles a seguir: interferon alfa (IFN) e peguilados (PEG), LMV, adefovir dipivoxil (ADV), entecavir (ETV), telbivudina (TBV) e tenofovir (TNF) (40).

Um estudo Chinês que tinha por objetivo avaliar e comparar a eficácia do ADV e ETV avaliou 100 pacientes virgens de tratamento. Foram submetidos ao tratamento com ADV 33 pacientes HBeAg positivo e 19 pacientes HBeAg negativo, enquanto que ao tratamento com ETV foram submetidos 32 pacientes HBeAg positivo e 16 HBeAg negativo. O ETV demonstrou ser superior em relação ao ADV quando em pacientes HBeAg positivos, proporcionando uma maior redução nos níveis de DNA-VHB nos pacientes em tratamento com o ETV. No entanto, em pacientes HBeAg negativo não houve diferença entre os grupos. Nos pacientes dos dois grupos não foram observados o desenvolvimento de mutações de resistência durante o tratamento e os pacientes toleraram bem tanto o ETV quanto o ADV (41).

Outro estudo realizou uma revisão sistemática comparando a eficácia entre os análogos de nucleotídeos ADV, ETV e TBV, selecionando 29 artigos publicados entre 1970 e 2010. O resultado deste estudo demonstrou que o ADV, o ETV e a TBV demonstraram eficácia superior ou similar à LMV. Ficou demonstrado neste estudo que o ETV é uma boa opção para substituir a LMV no tratamento da hepatite B crônica, pois além de eficaz ele possui baixa incidência de resistência viral. O ADV apresentou bons resultados em pacientes que já são resistentes à LMV. A TBV apesar de eficaz, também já possui índices consideráveis de resistência viral, o que dificulta a sua utilização como opção terapêutica à LMV (40). Apesar das novas terapias para a hepatite B, ainda há pacientes que utilizam a

LMV ou pelo fato da droga ter sido iniciada na era anterior dos novos antivirais ou devido à falta de acesso às novas drogas.

Mutações no gene da polimerase

Mutações no gene da polimerase viral podem surgir durante o tratamento prolongado com análogos de nucleotídeos na hepatite crônica B e induzem o surgimento de VHB resistentes à droga (39).

O surgimento desta mutação no gene da polimerase ocorre de forma gradual. No início do tratamento com análogos de nucleotídeos acontece uma queda rápida dos níveis sorológicos de DNA, geralmente bifásica, que em muitas oportunidades pode chegar a níveis indetectáveis por ensaios convencionais. Concomitantemente pode haver uma normalização dos níveis das aminotransferases no soro do paciente (39).

Em caso de não acontecer a soroconversão do HBeAg para anti-HBe, muito provavelmente haverá uma persistência da replicação viral. É nesta fase que a mutação pode acontecer e conseqüentemente a resistência viral. Apesar de não haver sinais de resistência viral no soro, quando se faz a amplificação das sequências de nucleotídeos do genoma do VHB através de ensaios imunológicos sensíveis é possível encontrar uma mistura de genomas de VHB selvagens e VHB mutantes (39).

A detecção inicial de DNA-VHB mutantes resistentes ao tratamento com análogos de nucleotídeos pode demorar vários meses e será seguido por elevação dos títulos sorológicos de aminotransferases, fenômeno conhecido como resistência fenotípica. Quando se é possível detectar mutantes no soro e elevação sorológica das aminotransferases, muito provavelmente, já acontece de praticamente todos os genomas dos VHB ali presentes possuem a mutação no gene da polimerase que confere resistência às drogas (39).

Dentre as possíveis mutações no gene da polimerase, a que merece maior destaque e importância são as que estão relacionadas com a resistência conferida ao VHB contra o tratamento prolongado através de análogos de nucleotídeos. A polimerase do VHB é dividida em quatro domínios: proteína terminal, espaçador, rt e ribonuclease H (42).

Uma característica importante do genoma do VHB é a sua organização em estrutura de leitura sobreposta, onde o gene S é completamente sobreposto pelo gene da polimerase. Portanto, uma mutação no gene S pode repercutir produzindo alterações também

no gene da polimerase, por consequência desta sobreposição. Igualmente, uma mutação no gene da polimerase repercute no gene S, induzindo alterações no mesmo (43).

Esta sobreposição entre os genes S e o da polimerase dentro do genoma do VHB faz com que uma mutação no gene S induzida por imunoterapias, como vacinação ou imunoglobulina da hepatite B, pode induzir também a uma mutação no gene da polimerase viral, influenciando, portanto na replicação do VHB. No entanto, a recíproca é verdadeira, uma alteração selecionada dentro do gene da polimerase como acontece por consequência do tratamento prolongado com análogos de nucleotídeos na hepatite B crônica, também pode induzir alterações no gene S, promovendo consequentemente a formação de HBsAg modificado, reduzindo a antigenicidade desta proteína e facilitando o escape imunológico do VHB (43).

A principal mutação descrita nesses VHB resistentes aos análogos de nucleotídeos resulta de uma substituição de isoleucina (I) ou valina (V) no motivo YMDD do domínio catalítico da transcriptase reversa viral. Além desta, outras mutações têm sido evidenciadas no tratamento prolongado com análogos de nucleotídeos como, por exemplo, a substituição da fenilalanina pela leucina no aminoácido 501 ou uma substituição da leucina por metionina no aminoácido 515 (44).

As mutações no gene da polimerase induzidas pela terapia com lamivudina (LMV) muito frequentemente está associadas a modificações na proteína de envelope HBsAg, mais especificamente no determinante “a” da mesma. Como já dito anteriormente, estes mutantes resistentes a LMV podem também se tornar mutantes de escape imunológico por consequência da sobreposição entre o gene S e o gene da polimerase (43).

Por que ocorre a resistência?

É sabido que o VHB apesar de possuir um genoma de DNA, ele se replica através de um intermediário do DNA, possuindo uma dependência da RNA polimerase para se replicar. A alta taxa de replicação do VHB é uma das justificas para as frequentes variações no genoma e o surgimento de mutantes resistentes. Outro motivo seria a pressão de seleção induzida por um agente antiviral onde os mutantes os menos favorecidos sucumbem e os mais favorecidos evolutivamente prevalecem e se tornam as espécies de VHB predominantes (45).

O desenvolvimento de resistência aos antivirais depende de inúmeros fatores, no entanto, alguns são atualmente considerados como os principais responsáveis, são eles: a aptidão viral, a potência do medicamento e a barreira genética de resistência (45).

A aptidão viral é basicamente a capacidade que um vírus possui de replicar-se em um determinado ambiente. Partindo desse princípio, a aptidão viral depende da capacidade de replicação do VHB, ou seja, o quanto este vírus é capaz de se replicar quando na presença de um medicamento, e do espaço de replicação, que se refere a capacidade do meio em dar suporte a esta replicação viral. Partindo para o VHB, o medicamento em questão seria os análogos de nucleotídeos e o espaço de replicação seria o hepatócito (45).

Os vírus que sofreram mutações em seu genoma normalmente não possuem a mesma capacidade de se replicar que os vírus selvagens, que não sofreram alterações em seu genoma. No entanto, quando em presença de um agente antiviral, os vírus mutantes possuem uma vantagem evolutiva sobre os vírus selvagens, possuindo, portanto uma maior aptidão viral. Com o passar do tempo, acontecem algumas mutações de compensação na polimerase viral que restauram a capacidade de replicação do vírus mutante e equivale essa diferença nos níveis de replicação quando se compara os vírus mutantes e os selvagens (45).

A potência do medicamento é basicamente a velocidade em que uma droga é capaz de suprimir uma replicação viral, ou seja, quando se referindo a infecção pelo VHB, a capacidade de inibir competitivamente a polimerase do VHB reflete a potência de um análogo de nucleotídeos. Portanto, quanto mais potente a droga mais rapidamente irá suprimir a replicação viral e, conseqüentemente, quanto menos tempo o vírus se replica menor o risco de surgirem as mutações e o desenvolvimento de mutantes resistente aos medicamentos antivirais (45).

Quando o medicamento antiviral possui uma baixa potência, ele demora a suprimir a replicação viral e conseqüentemente irá exercer uma pressão mínima sobre esta população viral e o vírus permanecerá por mais tempo se replicando, aumentando as chances de aparecerem vírus mutantes resistentes aos medicamentos. Logo, quanto mais potente a droga mais rápido será atingida a completa supressão da replicação viral e menor o risco de desenvolvimento de mutantes resistentes (45).

A barreira genética de resistência reflete o número mutações que um vírus precisa desenvolver e acumular para que este se torne capaz de se replicar eficientemente mesmo quando na presença de um agente antiviral. Partindo deste conceito, é possível entender que a barreira genética de resistência depende tanto das características do vírus

quanto do medicamento. Portanto, um agente com elevada barreira genética necessita de um número elevado de mutações acumuladas em seu genoma para que possa se multiplicar na presença de um agente antiviral, o que proporciona uma menor probabilidade de este vírus desenvolver resistência ao medicamento (45).

Alguns outros fatores já são conhecidos por influenciar o desenvolvimento de mutações no genoma viral e, indiretamente, promover resistência aos medicamentos antivirais. Dentre estes fatores, podemos citar: a supressão imunológica promovida por alguns medicamentos promove um aumento na taxa de replicação viral no desenvolvimento de mutações e resistência aos antivirais; a obesidade pois altera o volume de distribuição; não adesão do paciente; e redução da atividade de enzimas celulares do hospedeiro, necessárias para fosforilação de pró-fármacos (45).

Lamivudina no tratamento da hepatite crônica B

A partir da introdução da terapia com análogos de nucleotídeos na última década pode se notar uma melhora significativa no tratamento de pacientes com infecção crônica pelo VHB, reduzindo a incidência de complicações comuns a pacientes com hepatite B, como, por exemplo, cirrose hepática e CHC. Entretanto, por consequência do tratamento com análogos de nucleotídeos cepas de VHB mutantes resistentes ao tratamento têm sido selecionadas por consequência do uso prolongado destes medicamentos. A melhor maneira de se utilizar estes agentes antivirais tem sido um dos principais desafios no tratamento da hepatite B e estudos buscam qual a melhor forma de utilizar os análogos de nucleotídeos, se individualmente, por terapia combinada ou sequencialmente, sempre objetivando diminuir a seleção de VHB mutantes resistentes ao tratamento (45).

A LMV foi o primeiro análogo de nucleotídeo oral a ser aprovado para o tratamento de pacientes com infecção crônica pelo VHB. A LMV atua inibindo a polimerase do VHB e conseqüentemente inibe também a replicação do vírus, reduzindo assim a incidência de cirrose hepática e CHC. O tratamento com LMV demonstra bons resultados no controle da replicação viral e conseqüentemente aumenta a sobrevida dos pacientes com HVB crônica (46). A dose de LMV geralmente utilizada no tratamento destes pacientes é 100 mg, em dose única diária, sendo geralmente bem tolerada (5).

O tratamento antiviral pode ser indicado para pacientes com hepatite B crônica HBeAg positivo ou negativo, desde que seja encontrado os seguintes achados

laboratoriais e histológico: DNA-VHB no soro > 2.000 UI/ml, ALT sorológica elevada e biópsia hepática indicando grau de atividade A2 (atividade moderada) ou grau de fibrose F2 (fibrose portal com raros septos) pela pontuação METAVIR que é uma escala que mede o grau de atividade histológica variando de 0 a 3 e o grau de fibrose variando de 0 a 4 (47).

O tratamento com LMV visa atingir uma redução significativa e sustentada da replicação viral em pacientes portadores crônicos do VHB e, em segundo plano, tem por objetivo impedir a reativação da hepatite B. Alguns critérios laboratoriais e histológicos têm sido utilizados para controle da eficácia do tratamento da hepatite B crônica, são eles: níveis sorológicos de ALT normalizados, DNA-VHB sorológico indetectável, negatificação sorológica do HBeAg com ou soroconversão para anti-HBe e uma biópsia apresentando uma melhora da histologia do parênquima hepático (48).

Como já dito anteriormente, o tratamento da hepatite crônica B com lamivudina é habitualmente por tempo prolongado, pois é necessário inibir a replicação viral e evitar a reativação da doença. O grande questionamento da eficácia do tratamento com LMV reside na incidência de VHB mutantes resistentes ao medicamento, sendo estes selecionados justamente por consequência do tratamento prolongado com LMV (48). Portanto, apesar de o tratamento com LMV ser eficaz na maioria dos pacientes, ele possui essa limitação na sua utilização pois selecionam mutações de resistência que acumulam-se durante a terapia a longo prazo com este medicamento (25). Alguns estudos demonstram que o tratamento da hepatite B crônica com LMV tem demonstrado induzir uma maior taxa de surgimento de VHB mutantes resistentes aos medicamentos do que outros análogos de nucleotídeos que surgiram mais recentemente no mercado, como adefovir e entecavir (49).

O surgimento dessas mutações nos VHB que desenvolvem resistência à LMV está muito associado à pressão seletiva imposta pela presença da droga, ou seja, a própria droga seleciona VHB portadores de mutações que lhe dão vantagem evolutiva, como é o caso da resistência à LMV (50).

A análise do genoma da maioria dos pacientes portadores hepatite B crônica resistentes ao tratamento com LMV demonstrou que as substituições na posição 204 no motivo YMDD da polimerase viral da metionina por valina ou por isoleucina são as mais frequentemente relatadas. A substituição da metionina por valina é mais frequentemente relatada e normalmente é acompanhada pela substituição da leucina pela metionina na posição 180 do aminoácido (48).

A incidência de mutações no genoma do VHB está diretamente associada com a duração do tratamento com LMV. Quanto mais prolongado o tratamento do este medicamento maior a chance de selecionar VHB portadores de mutações de resistência. Entretanto, esta resistência a LMV é encontrada em pacientes com infecção crônica pelo VHB mas virgens de tratamento e em portadores inativos do VHB. O que demonstra então que não apenas a exposição prolongada ao medicamento induz a esta resistência à LMV (5).

O risco de surgimento de mutações de resistência à LMV varia entre 20 a 25% ao ano, podendo chegar a 80% dos pacientes necessitam de tratamento por mais de 5 anos com este medicamento. Podemos dizer que quanto maior o tempo de tratamento com LMV no paciente portador de infecção crônica pelo VHB, maior será a incidência de cepas de VHB com mutações no domínio YMDD. Entretanto, um estudo realizado no Japão relata uma possível relação entre o aparecimento desta mutação e níveis séricos elevados de ALT (46).

O desenvolvimento de mutações genéticas de resistência ao tratamento antiviral apesar de ser frequente não é inevitável. Alguns estudos buscam avaliar a melhor maneira de se utilizar estes medicamentos sem que possam induzir estas mutações de resistência. A utilização de altas doses do medicamento ou a combinação de drogas tem sido estudada e parecem ser eficazes. Estudos demonstram que uma dose inicial alta de LMV é capaz de inibir a replicação viral de forma sustentada e ainda atrasar a incidência de mutações no genoma do VHB que desenvolvem resistência à LMV em pacientes com hepatite B crônica (52).

Apesar da associação da LMV ao surgimento de mutações de resistência, este medicamento ainda é utilizado no tratamento da infecção crônica pelo VHB, pois atua estabilizando a função hepática e estimulando a soroconversão do HBeAg em anti-HBe em uma quantidade significativa de pacientes, promove uma melhora da histologia hepática, além de retardar a progressão da hepatite B para cirrose hepática e CHC, juntamente com a imunoglobulina da hepatite B é muito eficaz na prevenção de recorrência da infecção pelo VHB em pacientes transplantados do fígado e é também possui eficácia comprovada em pacientes portadores do VHB mutante pré-Core. No entanto, é comum que em pacientes que cessaram o tratamento com LMV aconteça a reversão sorológica e este paciente passa a ser HBeAg positivo, ou seja, ocorre uma reativação da replicação viral após a interrupção do tratamento com LMV (43).

O tratamento da hepatite B crônica exige o uso prolongado da LMV e com isso é necessário considerar a segurança da droga e sua capacidade em inibir ou pelo menos

retardar o aparecimento de mutações no genoma do VHB que conferem resistência a este medicamento. Vários estudos já demonstram que o benefício clínico da terapia com LMV ou qualquer outro análogo de nucleotídeo é comprometido justamente pelo aparecimento de cepas de VHB resistentes ao tratamento por consequências de mutações no gene da polimerase. Entretanto, alguns estudos já relatam o aparecimento de VHB com mutações de resistência em pacientes virgens de tratamento, mas ainda muito pouco se conhece sobre a frequência de incidência dessas mutações nestes pacientes e qual o impacto da infecção destas variantes do VHB (47).

Um questionamento sobre o uso de LMV em pacientes cronicamente infectados pelo VHB é se é válido continuar o tratamento com este medicamento mesmo após o desenvolvimento de resistência. Alguns estudos demonstram que não há benefícios em se continuar o tratamento com LMV após o surgimento de VHB mutantes na região YMDD quando comparados com pacientes que interrompem o tratamento com este medicamento após surgirem as mutações de resistência. No entanto, um estudo com pacientes asiáticos portadores de VHB mutantes na região YMDD sem HVB crônica avançada demonstrou benefício em se continuar o tratamento com LMV, por um período de 8 anos, quando comparado com pacientes não tratados. (46). Entretanto, é válido ressaltar que esta não é uma prática usual.

O tratamento da infecção crônica pelo VHB com agentes antivirais deve então se basear em inibir continuamente a replicação viral, evitar recidiva da doença e também retardar ou impedir a incidência de mutações de resistência no VHB. Os métodos de utilização de análogos de nucleotídeos no tratamento da hepatite B crônica incluem o uso de agentes antivirais mais potentes, mudança de estratégia de tratamento em pacientes nos quais houve uma progressão da doença mesmo durante o tratamento e a utilização de agentes antivirais combinados (5).

Objetivando reduzir a incidência de mutações de resistência por parte do VHB, o DNA-VHB deve ser sempre monitorado com muito cuidado para avaliar se o paciente como está respondendo ao medicamento, se esta respondendo bem a replicação viral está inibida e os índices do DNA-VHB estão baixos, parcialmente ou se não há resposta satisfatória ao mesmo e a replicação viral permanece ativa (46).

A literatura já possui diretrizes terapêuticas bem consistentes a respeito de como manejar um paciente que desenvolve resistência ao tratamento com drogas antivirais, como no caso da LMV. A monoterapia sequencial deve ser evitada, e caso a monoterapia

inicial falhar deve ser utilizada uma segunda droga adicionada a esta primeira ou então deve ser se iniciar uma combinação mais potente de drogas com o objetivo de evitar a incidência de resistência (46).

O uso disseminado de LMV no tratamento para infecção crônica pelo VHB e a imunização através da vacinação induzem a seleção de VHB portadores de mutações no gene S e no gene da polimerase. Isto possui grande impacto na saúde pública, pois mutantes de escape imunológico são capazes de infectar indivíduos vacinados e teoricamente imunes, sendo prevalentes em países com altas taxas endêmicas de infecção pelo VHB e com programa de vacinação universal contra o VHB (46).

Outro ponto importante a ser questionado é que a seleção de VHB mutantes por consequência do uso generalizado de LMV no tratamento da infecção crônica pelo VHB se tornou um problema mundial de saúde pública. Isto limita a eficácia da terapia prolongada com análogos de nucleotídeos e, conseqüentemente, mesmo com o investimento do sistema de saúde nestes medicamentos, ainda assim, haverá pacientes que não respondem aos mesmos e permanecem infectados e, provavelmente, acontecerá uma progressão da doença para cirrose hepática ou CHC, gerando mais custos e maior probabilidade de mortes por consequência da infecção pelo VHB (43).

Alguns estudos sugerem que uma avaliação prévia da resistência do VHB ao tratamento com LMV em pacientes com hepatite B crônica ou a utilização de um agente antiviral diferente pode aumentar a eficácia do tratamento e prevenir complicações (5). A tabela 1 a seguir ilustra as taxas de resistência viral devido ao tratamento prolongado com a LMV no tratamento de pacientes com hepatite crônica B.

Tabela 1 - Taxa de resistência viral ao tratamento com LMV

Referência	N° de pacientes	Taxa de resistência	Tempo de tratamento
5	283	18%	14 a 18 meses
25	36	55%	12 a 84 meses
45	100	65%	48 a 60 meses
46	78	58%	15 a 48 meses
49	44	100%	8 a 66 meses
50	44	57%	Não Informado
51	62	69%	12 a 60 meses
52	Não Informado	80%	Não Informado

Monitoramento de resistência antiviral

A detecção de resistência ao tratamento antiviral pelo VHB é uma questão importante a ser considerada, pois, quanto antes o médico perceber esta resistência, menor será a seleção de VHB mutantes e mais rápido será a modificação na estratégia de tratamento, trazendo benefícios ao paciente. Esta detecção de resistência ao tratamento antiviral requer a implementação de um cronograma de acompanhamento adequado durante o tratamento da infecção crônica pelo VHB (45).

As diretrizes para o tratamento da hepatite B crônica recomendam que a vigilância da incidência de resistência ao tratamento com drogas antivirais seja feita avaliando periodicamente os níveis sorológicos de DNA-VHB usando métodos de ensaios sensíveis. A utilização de testes de genotipagem para avaliar a incidência de mutações de resistência aos antivirais não é recomendado como método de vigilância, pois possui elevados custos, além da ausência de ensaios padronizados e pelo fato de que para que este teste funcione o perfil de resistência genotípica do agente ao agente antiviral deve ser previamente conhecido. Outro método que também não está recomendado é a monitorização sorológica da ALT, pois este apesar de ser um teste sensível não é específico para detecção de resistência aos antivirais utilizados no tratamento da hepatite B crônica (45).

Portanto, para vigilância da incidência de mutações de resistência do VHB ao tratamento antiviral é necessário se dosar os níveis sorológicos de DNA-VHB em todos os pacientes que recebem tratamento com análogos de nucleotídeos, para que seja feita uma documentação de uma resposta virológica no início do tratamento e para avaliar uma possível falha da terapia antiviral em pacientes que inicialmente atingiram uma resposta virológica satisfatória, mas que provavelmente desenvolveram esta mutação de resistência e não é mais capaz de responder bem ao tratamento (45).

A periodicidade de avaliação sorológica do DNA-VHB seria uma dosagem no início do tratamento com o medicamento antiviral e uma vez a cada três meses de tratamento, até que os níveis sorológicos de DNA-VHB se tornem indetectáveis. A partir deste momento não existe mais a necessidade se dosar o DNA-VHB a cada três meses, podendo se estender a periodicidade dessa avaliação entre 3 e 6 meses durante o tratamento. Apesar da baixa especificidade para detecção de resistência ao tratamento antiviral, a ALT sérica deve também ser monitorada para avaliar a evolução bioquímica (45).

A elevação sorológica dos níveis de DNA-VHB durante o curso do tratamento com drogas antivirais indica que ocorreu falha terapêutica. Quando nesta situação, o médico deve pedir um novo teste sorológico de DNA-VHB no prazo de um mês, se os níveis permanecerem elevados confirma a falha terapêutica indicada no primeiro teste. Caso o teste de resistência genotípica esteja disponível no serviço, este deve ser solicitado no momento da descoberta da resistência do VHB ao tratamento antiviral. Isto irá permitir que o médico possa selecionar melhor suas opções terapêuticas alternativas, previne o uso de terapia inapropriada, reduz o custo do tratamento e diminui a exposição do paciente a drogas no qual ele é resistente e não teria efeito sobre o subtipo de VHB em questão (45).

Prevenção de resistência viral

A prevenção da resistência ao tratamento com drogas antivirais é uma meta importante no tratamento da hepatite B, assim como também acontece no tratamento de outras doenças de etiologia viral. A prevenção de incidência dessas mutações vai desde a seleção adequada do paciente que irá ser tratado por estas drogas antivirais, até o uso criterioso desses agentes terapêuticos em pacientes portadores crônicos do VHB (45).

É importante salientar que o médico deve evitar uma terapia antiviral inadequada para determinados pacientes como, por exemplo, portadores crônicos do VHB, HBeAg positivos, que estão na fase de imunotolerância da doença. A terapia antiviral nestes pacientes ainda não é indicada, pois não há estudos comprovando o benefício do tratamento com análogos de nucleotídeo neste grupo de pacientes. No caso de pacientes nos quais a terapia com agentes antivirais está indicada, deve-se selecionar um agente antiviral com maior potência e uma elevada barreira genética de resistência, deixando a escolha da LMV para situações especiais como profilaxia de portadores inativos do VHB que serão submetidos à quimioterapia ou corticoterapia a fim de evitar uma ativação viral nestes pacientes, gestantes e em pacientes que serão submetidos a transplante renal ou hepático (45).

No caso de pacientes portadores crônicos do VHB, HBeAg positivos, com níveis sorológicos de DNA-VHB elevados, deve-se iniciar o tratamento com terapia combinada, objetivando evitar, reduzir ou pelo menos o aparecimento de VHB mutantes resistentes ao tratamento com análogos de nucleotídeo (45).

Como forma de prevenir o desenvolvimento de uma multirresistência aos análogos de nucleotídeos utilizados no tratamento da hepatite B crônica, a monoterapia

sequencial deve ser evitada, assim como também devem ser evitados a utilização de agentes antivirais que possuam perfis semelhantes de resistência cruzada (45).

A monitorização da resposta do paciente ao tratamento com drogas antivirais é fundamental para que aconteça uma detecção precoce da incidência de mutações no genoma do VHB e uma menor exposição do paciente a estas drogas, criando também a possibilidade de o médico intervir precocemente e obter melhores resultados no tratamento (45).

IX. Conclusão

A infecção pelo VHB está fortemente associada ao aparecimento de doença hepática crônica e carcinoma hepatocelular sendo um problema mundial de saúde pública. Algumas ações têm sido realizadas, apesar de ainda insuficientes, no intuito de reduzir a prevalência de infecção pelo VHB, como a implementação da vacina contra o vírus e o surgimento de drogas antivirais como os análogos de nucleotídeos que agem no intuito de inibir a replicação viral. No entanto, ainda assim a prevalência de infectados pelo VHB e mortalidade por consequência da infecção ou das complicações da mesma, permanecem elevadas.

O uso da LMV no tratamento da hepatite B está fortemente associado ao desenvolvimento de mutações no genoma do VHB que induzem resistência ao tratamento da hepatite B crônica com LMV e eventualmente outras drogas. Diversos estudos observaram que estas mutações surgem de forma proporcional ao tempo de utilização da droga, variando de cerca de 20% com um ano de tratamento para 80% em pacientes que fazem uso por cinco anos de LMV.

X. Referências

1. Utama A, Siburian MD, Fanany I, Intan MD, Dhenni R, Kurniasih TS, et al. Hepatitis B virus pre-S2 start codon mutations in Indonesian liver disease patients. *World J Gastroenterol*; 18 (38); 5418-26; Oct 2012.
2. Fonseca JCF. Natural history of chronic hepatitis B. *Rev Soc Bras Med Trop*; 40 (6); 8682-37; Nov 2007.
3. Perim EB, Passos ADC. Hepatitis B in pregnant women assisted by the Prenatal Program of the Municipal Health Department of Ribeirão Preto, Brazil: prevalence of infection and care provided to newborns. *Ver Bras Epidemiol*; 8 (3); 1415-790; Sep 2005.
4. Lee KM, Kim YS, Ko YY, Yoo BM, Lee KJ, Kim JH, et al. Emergence of vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus with multiple surface gene mutations in a Korean child. *J Korean Med Sci*; 16 (3); 359-62; Jun 2001.
5. Yildiz O, Aygen B, Dermirturk N, Dermidal T, Inan D, Yildirmak T, et al. Lamivudine resistance mutations in patients infected with hepatitis B virus genotype D. *World J Gastroenterol*; 17 (45); 4987-92; Dec 2011.
6. Goldman L, Ausiello DC. Cecil: Tratado de medicina interna. 23ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008.
7. Viganò M, Lampertico P. Clinical implications of HBsAg quantification in patients with chronic hepatitis B. *Saudi J Gastroenterol*; 18 (2); 81-6; Mar-Apr 2012.
8. Ferreira CT, Silveira TR. Viral Hepatitis: epidemiological and preventive aspects. *Rev Bras Epidemiol*; 7 (4); 1415-790; Dec 2004.
9. Seeger C, Mason WS. Hepatitis B virus biology. *Microbiol Mol Rev*; 64 (1); 51-68; Mar 2000.
10. Cheng CP, Lee PF, Liu WC, Wu IC, Chin CY, Chanq TT, et al. Analysis of precore/core covariances associated with viral kinetics and genotypes in hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B patients. *PLoS One*; 7 (2); e32553; Feb 2012.
11. Ganem D, Schneider R. Hepadnaviridae: the viruses and their replication. In: Fields Virology. Knipe, D.M., Howley, P.M.(eds.). Philadelphia: Lippincott-Raven, 2001.
12. Hunt CM, McGill JM, Allen MI, Condreay LD. Clinical relevance of hepatitis B viral mutations. *Hepatology*; 31 (5); 1037-44; May 2000.
13. R Bartenschlager and H Schaller. The amino-terminal domain of the hepadnaviral P-gene encodes the terminal protein (genome-linked protein) believed to prime reverse transcription. *EMBO J*; 7 (13); 4185-4192; Dec 1988.

14. Blum HE, Haase AT, Vyas GN. Molecular pathogenesis of hepatitis B virus infection: simultaneous detection of viral DNA and antigens in paraffin-embedded liver sections. *Lancet*; 2 (8406); 771-5; Oct 1984.
15. Yang HI, Lu SN, Liaw YF, You SL, Sun CA, Wang LY, et al. Hepatitis B e antigen and the risk of hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*; 347 (3); 168-74; Jul 2002.
16. Decker R H, Zukerman A J, Thomas H C. Diagnosis of acute and chronic hepatitis B in Viral hepatitis: scientific basis and clinical management. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1993.
17. Gacche RN, Kaid AMS. Epidemiology of Viral Hepatitis B and C Infections in Ibb City, Iemen. *Hepat Mon*; 12 (7); 460-462; Jul 2012.
18. Chávez JH, Campana SG, Haas P. An overview of hepatitis B in Brazil and in the state of Santa Catarina. *Ver Panam Salud Publica*; 14 (2); 91-6; Aug 2003.
19. Braga WS. [Hepatitis B and D virus infection within Amerindians ethnic groups in the Brazilian Amazon: epidemiological aspects]. *Rev Soc Bras Med Trop*; 37 (suppl 2); 9-13; 2004.
20. Souto FJ. [Hepatitis B and the human migratory movements in the State of Mato Grosso, Brazil]. *Rev Soc Bras Med Trop*; 37 (suppl 2); 63-8; 2004.
21. Viana S, Paraná R, Moreita RC, Compri AP, Macedo V. High prevalence of hepatitis B virus and hepatitis D virus in the western Brazilian Amazon. *Am J Trop Med Hyg*; 73 (4); 808-14; Oct 2005.
22. Nunes HM, Monteiro MRCC, Soares MCP. Prevalence of hepatitis B and D serological markers in the Parakanã, Apyterawa Indian Reservation, Pará State, Brazil. *Cad Saúde Pública*; 0102-311; Nov 2007.
23. Zhong YW, Li J, Song HB, Duan ZP, Dong Y, Xing XY, et al. Virologic and clinical characteristics of HBV genotypes/subgenotypes in 487 Chinese pediatric patients with CHB. *BMC Infect Dis*; 11; 262; Sep 2011.
24. Kramvis A, Kew M, François G. Hepatitis B virus genotypes. *Vaccine*; 23 (19); 2409-23; Mar 2005.
25. Bottechia M, Souto FJD, Kycia MR Ó, Amendola M, Brandão CE, Niel C, et al. Hepatitis B virus genotypes and resistance mutation in patients under long term lamivudina therapy: characterization of genotype G in Brazil. *BMC Microbiology*; 8 (11); 2180-1471; 2008.
26. Lobato C, Tavares-Neto J, Rios-M Leite, Trego C, Vitvitski L, Parvaz P, Zoulim F, et al. Intrafamilial prevalence of hepatitis B in western Amazon region: Epidemiologic and biomolecular. *J Gastroenterol Hepatol*; 21 (5); 863-8; May 2006.

27. Kramvis A, K Arakawa, Yu MC, R Nogueira, Stram DO, Kew MC. Relationship of serological subtype, basic core promoter and precore mutations to genotypes/subgenotypes of hepatitis B virus. *J Med Virol*; 80 (1); 27-46; Jan 2008.
28. Tangkijvanich P, V Mahachai, Komolmit P, J Fongsarun, Theamboonlers A, Y Poovorawan. Hepatitis B virus genotypes and hepatocellular carcinoma in Thailand. *World J Gastroenterol*; 11 (15); 2238-43; Apr 2005.
29. Sitnik R, Pinho JR, Bertolini DA, Bernardini AP, Da Silva LC, Carrilho FJ. Hepatitis B virus genotypes and precore e core mutants in Brazilian patients. *J Clin Microbiol*; 42 (6); 2455-2460; Jun 2004.
30. Henry Lik-Yuen Chan, May Ling Wong, Alex Yui Hui, Lawrence Cheung-Tsiu Hunga, Francis Chan Ka-Leung, Joseph Jao Yiu Sung. Hepatitis Genotype C takes a more aggressive course of disease virus Hepatitis B Genotype B, and Hepatitis B antigen positive. *J Clin Microbiol*; 41 (3); 1277-9; Mar 2003.
31. Mayerat C, Mantegani A, Frei PC. Does hepatitis B virus (HBV) genotype influence the clinical outcome of HBV infection? *J Viral Hepat*; 6 (4); 299-304; Jul 1999.
32. Sánchez-Tapia JM, Costa J, Mas A, Bruquera M, Rodés J. Influence of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in western patients. *Gastroenterology*; 123 (6); 1848-56; Dec 2002.
33. Orito E, Mizokami M. Differences of HBV genotypes and hepatocellular carcinoma in Asian countries. *Hepatology Research*; 37 (S1); S33-5; Jul 2007.
34. Flink HJ, van Zonneveld M, Hansen BE, de Man RA, Schalm SW, Janssen HL. Treatment with PEG-interferon alpha-2b for HBeAg-positive chronic hepatitis B: Loss of HBsAg is associated with the genotype of HBV. *Am J Gastroenterol*; 101 (2); 297-303; Feb 2006.
35. Fung SK, Chae HB, Fontana RJ, Conjeevaram H, Marrero J, Oberhelman K, et al. Virologic response and resistance to adefovir in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol*; 44 (2); 283-90; Feb 2006.
36. Hirankarn N, Kimkong I, Kummee P, Tangkijvanich P, Poovorawan Y. Interleukin-1 beta gene polymorphism associated with hepatocellular carcinoma in hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol*; 12 (5); 776-9; Feb 2006.
37. Liu CJ, Kao JH, Chen DS. Therapeutic implications of hepatitis B virus genotypes. *Liver Int*; 25 (6); 1097-107; Dec 2005.
38. Niesters HG, Pas S, de Man RA. Detection of hepatitis B virus genotypes and mutants: current status. *J Clin Virol*; 34 (Suppl 1); S4-8; Dec 2005.
39. Kay A, Zoulim F. Hepatitis B virus genetic variability and evolution. *Virus Res*; 127 (2); 164-76; Aug 2007.

40. Almeida AM, Ribeiro AQ, Pádua CA, Brandão CM, Andrade EI, Cherchiglia ML, et al. [The efficacy of adefovir dipivoxil, entecavir and telbivudine for chronic hepatitis B treatment: a systematic review]. *Rev Soc Bras Med Trop*; 43 (4); 440-51; Jul-Aug 2010.
41. Chen EQ, Zhou TV, Liu L, Liu C, Lei M, Tang H. A comparison of treatment with adefovir and entecavir for chronic hepatitis B in China: The 2-year results of a prospective study. *Hepat Mon* 1; 11 (1); 31-27; Jan 2011.
42. Stuyver LJ, Locarnini SA, Lok A, Richman DD, Carman WF, Dienstag JL, et al. Nomenclature for antiviral-resistant human hepatitis B virus mutations in the polymerase region. *Hepatology*; 33 (3); 751-7; Mar 2001.
43. Torresi, J. The virological and clinical significance of mutations in the overlapping envelope in the polymerase genes of hepatitis B virus. *J Clin Virol*; 25 (2); 106-97; Aug 2002.
44. Melegari, M., P. P. Scalioni, and J. R. Wands. Hepatitis B virus mutants associated with 3TC and famciclovir administration are replication defective. *Hepatology*; 27 (2); 628-33; Feb 1998.
45. Ghany M G, Doo E C. Antiviral Resistance and Hepatitis B Therapy. *Hepatology*; 49 (5); S174-S184; May 2009.
46. Papatheodoridis G V, Dimou E, Laras A, Papadimitropoulos V, Hadziyannis S J. Course of virologic breakthroughs under long-term lamivudine in HBeAg-negative precore mutante HBV liver disease. *Hepatology*; 36 (1); 219-26; Jul 2002.
47. Pastor R, Habersetzer F, Fafi-Kremer S, Doffel M, Baumert TF, Gut JP, et al. Hepatitis B virus mutations potentially conferring adefovir/tenefovir resistance in treatment-naive patients. *World J gastroenterol*; 15 (6); 753-755; Feb 2009.
48. Haddad R, Martinelli A L, Uvemura S A, Yokosawa J. Hepatitis B virus genotyping among chronic hepatitis B patients with resistance to treatment with lamivudine in the City of Riberão Preto, State of São Paulo. *Ver Soc Bras Med Trop*; 43 (3); 224-228; 2010.
49. Ohkawa K, Takehara T, Kato M, Deguchi M, Kagita M, Hikita H, et al. Supportive role played by precore and preS2 genomic changes in the establishment of lamivudine-resistant hepatitis B virus. *J Infect Dis*; 198 (8); 1159-8; Oct 2008.
50. Mello FCA, Lago BL, Lewis.Ximenez LL, Fernandes CA, Gomes SA. Detection of mixed populations of wild-type and YMDD hepatitis B variants by pyrosequencing in acutely and chronically infected patients. *BMC Microbiol*; 12 (1); 96; Jun 2012.

51. Torre F, Giannini EG, Basso M, Savarino V, Picciotto A. 2011. Initial high dose of lamivudine delays the appearance of viral resistance in chronic hepatitis B patients. *J Gastrointestin Liver Dis*; 20 (1); 47-50; Mar 2012.
52. Fabien Zoulim. 2011. Hepatitis B virus resistance to antiviral drugs: where are we going?. *Liver Int*; 31 (Suppl 1); 111-116; Jan 2011.