



**ANTIVIRAIS DE AÇÃO DIRETA PARA O TRATAMENTO DE HEPATITE C
CRÔNICA: AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE GENÉTICA DO MEDICAMENTO
SOFOSBUVIR**

Johana Grigio¹
Carina Sperotto Librelotto²
Rafael Rodrigues Dihl³
Ana Paula de Souza⁴
Mário Reis Álvares-da-Silva⁵
Daniel Simon⁶

Resumo

A hepatite C apresenta elevado impacto na saúde pública global. Em 2017, o Ministério da Saúde lançou a atualização do Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C, com novas terapêuticas viabilizadas pelo Sistema Único de Saúde (SUS). Entre os fármacos disponíveis no SUS, encontramos o sofosbuvir (SOF), que é um medicamento antiviral de ação direta, que atua diretamente nos processos de replicação do vírus da hepatite C. O presente estudo objetiva avaliar a toxicidade genética do medicamento SOF. A genotoxicidade foi analisada empregando o teste de micronúcleo *in vitro* com bloqueio da citocinese (CBMN) utilizando a linhagem celular humana de carcinoma hepatocelular HepG2. Foram avaliados os seguintes parâmetros: eventos citotóxicos, cinética celular e os danos cromossômicos. As células HepG2 foram expostas a um tratamento com SOF durante 24 horas, nas concentrações 0,011, 0,023, 0,047, 0,094, 0,188, 0,377, 0,755 e 1,511 mM. Os resultados observados em nosso estudo demonstraram que os tratamentos com SOF não aumentaram a frequência de dano cromossômico e não reduziram os valores do Índice de Citotoxicidade da Divisão Nuclear (NDCI), independentemente da concentração. Em conclusão, a exposição das células HepG2 ao SOF não induziu citotoxicidade, dano cromossômico ou alterações genômicas complexas, independentemente das doses utilizadas. Considerando a grande importância dos regimes de tratamento baseados em SOF na terapia

¹ Aluna do curso de graduação Medicina – Bolsista FAPERGS – johana.grigio@hotmail.com

² Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), Canoas, RS, Brasil

³ Professor do do curso de graduação de Ciências Biológicas e do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), Canoas, RS, Brasil

⁴ Aluna de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), Canoas, RS, Brasil

⁵ Médico do Serviço de Gastroenterologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, e professor do Departamento de Medicina Interna, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

⁶ Professor do curso de graduação de Ciências Biológicas e do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde – daniel.simon@ulbra.br

de HCV, nossos resultados são relevantes na medida em que demonstram o perfil de segurança genotóxica do SOF.

Palavras chave: Hepatite C; instabilidade cromossômica; teste de micronúcleos; sofosbuvir.

INTRODUÇÃO

A hepatite C é uma doença amplamente distribuída no mundo. Estima-se que 3% da população mundial esteja infectada pelo vírus da hepatite C e que entre 60% e 70% dos portadores desenvolverão doença hepática crônica, necessitando de assistência à saúde especializada e de alta complexidade. A agressão hepatocelular causada pelo HCV pode evoluir para fibrose hepática, cirrose e carcinoma hepatocelular (CHC). Nas fases avançadas, pode ocasionar inclusive o óbito (MANDELL; BENNETT; DOLIN, 2010). Estima-se que a hepatite C seja responsável por, aproximadamente, 700.000 óbitos anuais em decorrência de suas complicações (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015).

No Brasil, a hepatite C teve como formas preferenciais de transmissão o uso de drogas injetáveis, hemodiálise, transfusão de sangue e hemoderivados, e outros procedimentos médicos invasivos, particularmente até o início dos anos 90, quando não havia exame que permitisse diagnosticar o portador do HCV (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

O HCV é um vírus com genoma de RNA fita simples, pertencente à família Flaviviridae. A análise filogenética das sequências de nucleotídeos do HCV de um grande número de isolados em todo o mundo demonstrou que o vírus pode ser classificado em seis principais genótipos, com diversos subtipos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

Em 2017, o Ministério da Saúde lançou a atualização do Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C, que, incorporou os antivirais de ação direta (DAA) para o tratamento da hepatite C. As atuais opções terapêuticas apresentam como vantagens: facilidade posológica; tratamento por menor período de tempo; menos efeitos adversos; melhores resultados do que as modalidades de tratamento anteriormente indicadas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). Entre os fármacos disponíveis no SUS, encontramos o sofosbuvir (SOF), que é um análogo de nucleotídeo inibidor da polimerase NS5B específica do HCV com elevada eficácia antiviral em todos os genótipos (GONZÁLEZ-GRANDE et al., 2016).

O presente estudo tem por objetivo avaliar a toxicidade genética do medicamento sofosbuvir, nova terapêutica fornecida pelo SUS no tratamento da hepatite C crônica.

METODOLOGIA

A avaliação da genotoxicidade foi realizada através do teste de micronúcleo *in vitro* com bloqueio da citocinese (CBMN-Cyt) utilizando a linhagem celular humana de carcinoma hepatocelular HepG2. As células HepG2 foram adquiridas do Banco do Rio de Janeiro. Os parâmetros avaliados foram: eventos citotóxicos (apoptose e necrose), cinética celular (células mononucleadas, binucleadas e multinucleadas) e os danos cromossômicos (micronúcleos, brotos nucleares e pontes nucleoplasmáticas).

As células HepG2 foram expostas a um tratamento com SOF durante 24 horas, nas concentrações 0,011, 0,023, 0,047, 0,094, 0,188, 0,377, 0,755 e 1,511 mM. Após o tratamento, as células HepG2 foram lavadas duas vezes em solução salina tamponada com fosfato de Dulbecco (DPBS) e foi adicionada citocalasina B. Posterior a esse processo, houve a centrifugação e coloração das lâminas. As lâminas foram secas ao ar e examinadas sob uma ampliação de 400x utilizando um microscópio ótico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento com SOF isolado não induziu redução nos valores de Índice de Citotoxicidade da Divisão Nuclear (NDCI), independentemente da concentração (Figura 1). As frequências de micronúcleos (MNI), pontes nucleoplasmáticas (NPB) e broto nuclear (NBUD) foram investigadas em células HepG2 utilizando o ensaio CBMN-Cyt. Os resultados observados em nosso estudo demonstraram que os tratamentos com SOF não aumentaram a frequência de dano cromossômico independentemente da dose (Tabela 1).

Figura 1. Efeitos da exposição de células HepG2 ao sofosbuvir (0,011–1,511 mM) no Índice de Citotoxicidade da Divisão Nuclear (NDCI).

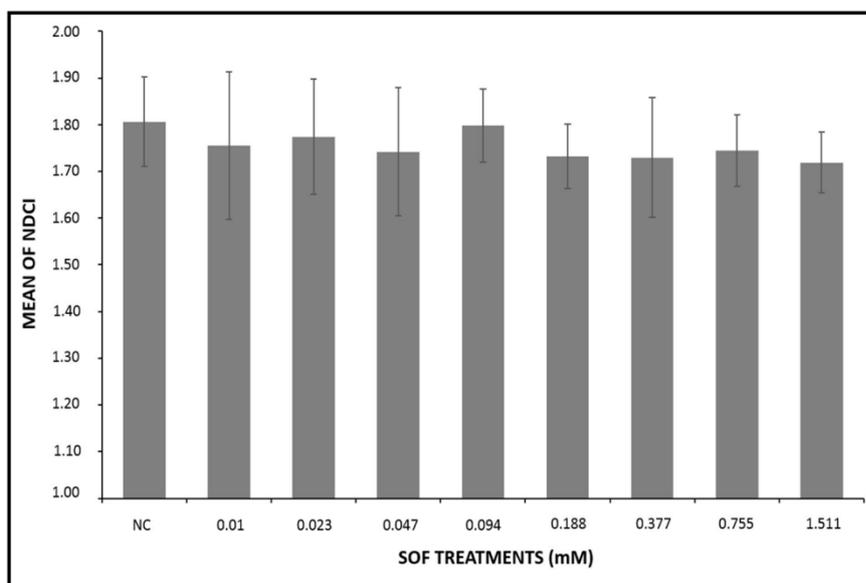


Tabela 1. Avaliação do teste de micronúcleo *in vitro* com bloqueio da citocinese do sofosbuvir isolado em células HepG2.

Tratamento	Dano cromossômico		
	MNi ^a	NPBs ^a	NBUDs ^a
NC	8,25 ± 3,45	0,50 ± 0,50	1,75 ± 0,71
PC (B[a]P 1 µM)	21,00 ± 6,24 ^b	0,0 ± 0,0	12,00 ± 5,00 ^b
0,094 mM	9,13 ± 3,36	0,50 ± 0,50	1,88 ± 1,64
0,188 mM	10,00 ± 2,19	0,0 ± 0,0	2,67 ± 2,31
0,377 mM	9,50 ± 3,66	0,0 ± 0,0	1,75 ± 1,50
0,755 mM	8,67 ± 2,34	0,0 ± 0,0	1,00 ± 0,0
1,511 mM	7,29 ± 4,54	0,0 ± 0,0	2,00 ± 1,41

NC: controle negativo (DMSO 1%, dimetil sulfóxido), PC (B[a]P 1 µM): controle positivo (benzo[a]pireno), MNi: micronúcleos, NPBs: pontes nucleoplasmáticas, NBUDs: brotos nucleares.

^a Valores mostrados como média ± desvio padrão.

^b Significativamente diferente do controle negativo (P<0.05) (teste U de Mann-Whitney).

CONCLUSÕES

A exposição das células HepG2 ao SOF não induziu citotoxicidade, dano cromossômico ou alterações genômicas complexas, independentemente das doses utilizadas. Considerando a grande importância dos regimes de tratamento baseados em SOF na terapia de HCV, nossos resultados são relevantes na medida em que demonstram o perfil de segurança genotóxica do SOF.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos órgãos e instituições que incentivaram a realização da presente pesquisa: CAPES, CNPq, FAPERGS e ULBRA.

REFERÊNCIAS

MANDELL, Mandell; BENNETT, John; DOLIN, R Raphael. **Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases**. 7 ed. Philadelphia: J. E. Gerald L. Mandell, Ed, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection** – 2015. Disponível em: <<http://www.who.int/hiv/pub/hepatitis/hepatitis-c-guidelines/en/>> Acesso em: 24 de maio 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, BRASIL. **Hepatites virais: o Brasil está atento**. Secretaria de Vigilância em Saúde., Departamento de Vigilância Epidemiológica, 2008. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/hepatites_virais_brasil_atento_3ed.pdf>. Acesso em: 25 de maio 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, BRASIL. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções**. Relatório de Recomendação, 2017. Disponível em: <http://conitec.gov.br/images/Consultas/2017/Relatorio_PCDT_HepatiteCeCoinfeccoes_CP1_1_2017.pdf> . Acesso em: 25 de maio 2018.

GONZÁLEZ-GRANDE, Rocío; JIMÉNEZ-PÉREZ, Miguel et al. New approaches in the treatment of hepatitis C. **World J Gastroenterol**, Malaga, v. 22, n.4, p.1421-32, 2016.