



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA**  
**TROPICAL**

**ASSOCIAÇÃO DOS LINFÓCITOS T CD4+ E CARGA VIRAL DO HIV COM A  
COINFEÇÃO GBV-C/HIV DE ACORDO COM TIPO DE TARV**

**Mestrando: Carlos Eduardo Guimarães Padilha**

**Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho**

**RECIFE/PE – 2015**

**CARLOS EDUARDO GUIMARÃES PADILHA**

**ASSOCIAÇÃO DOS LINFÓCITOS T CD4+ E CARGA VIRAL DO HIV COM A  
COINFEÇÃO GBV-C/HIV DE ACORDO COM TIPO DE TARV**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Doenças Infecciosas e Parasitárias

**Orientadora:** Prof<sup>ª</sup>. Dra<sup>a</sup>. Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho

**RECIFE/PE – 2015**

Ficha catalográfica elaborada pela  
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

P123a Padilha, Carlos Eduardo.  
Associação dos linfócitos T CD4+ e carga viral do HIV com a coinfeção  
GBV-C/HIV de acordo com tipo de TARV / Carlos Eduardo Padilha. – Recife:  
O autor, 2015.  
45 f.: il. tab.; 30 cm.

Orientadora: Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2015.  
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. HIV. 2. Coinfeção. 3. HAART. 4. GB vírus C. I. Coêlho, Maria  
Rosângela Cunha Duarte (Orientadora). II. Título.

618.9883

CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2015-096)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE)  
Pró-Reitoria para Assuntos de Pesquisa e Pós-Graduação (PROPESQ)  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE (CCS)  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical (PPGMEDTROP)

RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DO MESTRANDO

CARLOS EDUARDO GUIMARÃES PADILHA

No dia 21 de Fevereiro de 2014, às 13h30, na Sala de Aula do PPGMEDTROP, os Membros Doutores a Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. **Vlândia Maria Assis Costa (UFPE)** – Presidente da Banca, a Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. **Valdenia Maria Oliveira de Souza (UFPE)** e a Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. **Regina Célia Moreira (IAL- SP)**, componentes da Banca Examinadora, em sessão pública, arguiram o mestrando **CARLOS EDUARDO GUIMARÃES PADILHA** sobre a sua Dissertação intitulada “**Associação dos linfócitos T CD4+ e carga viral do HIV com a coinfeção GBV-C/HIV de acordo com tipo de TARV**”, a qual foi orientada pela Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. **Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho (UFPE)**. Ao final da arguição de cada membro da Banca Examinadora e resposta do mestrando, as seguintes menções foram publicamente fornecidas.

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. **Vlândia Maria Assis Costa**

Aprovado

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. **Valdênia Maria Oliveira de Souza**

Aprovado

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. **Regina Célia Moreira**

Aprovado

---

*Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Vlândia Maria Assis Costa*

---

*Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Valdênia Maria Oliveira de Souza*

---

*Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Regina Célia Moreira*



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM**  
**MEDICINA TROPICAL**

**REITOR**

Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

**PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

Francisco de Souza Ramos

**DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Nicodemos Teles Pontes Filho

**COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL**

Valdênia Maria Oliveira de Souza

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL**

Vera Magalhães de Silveira

**CORPO DOCENTE PERMANENTE**

Ana Catarina de Souza Lopes

Ana Lúcia Coutinho Domingues

Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto

Fábio André dos Santos Brayner

Heloísa Ramos Lacerda de Melo

Maria Amélia Vieira Maciel

Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho

Marli Tenório Cordeiro

Ricardo Arraes de Alencar Ximenes

Valdênia Maria Oliveira de Souza

Vláudia Maria Assis Costa

Vera Magalhães de Silveira

**CORPO DOCENTE COLABORADOR**

Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque

Rejane Pereira Neves

## AGRADECIMENTOS

---

Aos meus familiares, pais, irmãos, filhos e esposa.

Um agradecimento muito especial a minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho pelo acolhimento, apoio e dedicação.

Ao Evônio de Barros Campelo Júnior, colega e amigo, pelo incentivo e doação fraternal e para a amiga Viviane Martha Santos de Moraes pela dedicação, desprendimento e extrema solidariedade, essenciais para a elaboração desse trabalho.

Aos pacientes que aceitaram participar do trabalho, cooperando com boa vontade, compreensão e fornecendo inspiração.

A todos da Pós-Graduação em Medicina Tropical que contribuíram para a minha formação acadêmica.

Mais uma vez, os meus sinceros agradecimentos.

Sócrates: Você sabe, Fedro, esta é a singularidade do escrever, que o torna verdadeiramente análogo ao pintar. As obras de um pintor mostram-se a nós como se estivessem vivas; mas, se as questionamos, elas mantêm o mais altivo silêncio. O mesmo se dá com as palavras escritas: parecem falar conosco como se fossem inteligentes, mas, se lhes perguntamos qualquer coisa com respeito ao que dizem, por desejarmos ser instruídos, elas continuam para sempre a nos dizer exatamente a mesma coisa. E, uma vez que algo foi escrito, a composição, seja qual for, espalha-se por toda a parte, caindo em mãos não só dos que a compreendem, mas também dos que não têm relação alguma com ela; não sabe como se dirigir às pessoas certas e não se dirigir às erradas. E, quando é maltratada ou injustamente ultrajada, precisa sempre que o seu pai lhe venha em socorro, sendo incapaz de se defender ou de cuidar de si própria.

*Platão, in 'Fedro'*

## RESUMO

---

A infecção do GB vírus tipo C (GBV-C) é frequente em pessoas vivendo com HIV/aids devido ao compartilhamento das vias de transmissão. No entanto, se os coinfectados têm uma resposta mais favorável ao tratamento com antiretrovirais do que os monoinfectados ainda é questionado. O objetivo deste trabalho foi verificar a associação entre a contagem de linfócitos T CD4 e carga viral do HIV em pessoas infectadas pelo GBV-C, com ou sem uso de TARV. Foram utilizadas amostras sanguíneas provenientes de pessoas vivendo com HIV/aids e atendidas no Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), no período de julho a dezembro de 2011. As amostras sanguíneas, assim como os dados sobre sexo, idade e carga viral do GBV C foram obtidos a partir da soroteca e dos arquivos do Setor de Virologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) da UFPE. A contagem de linfócitos T CD4+ e a carga viral do HIV foram obtidas a partir dos prontuários dos pacientes. Trata-se de um estudo descritivo analisado como caso controle, onde foram analisadas 142 pessoas vivendo com HIV/aids há mais de 48 meses de diagnóstico, 86 (60,6%) eram do sexo masculino e 56 (39,4%) do sexo feminino, com média de idade de 43 anos. Foram considerados como caso 34 pacientes coinfectados HIV/GBV-C, sendo 61,8% (21/34) do sexo masculino e 38,2% (13/34) sexo feminino, com média de idade de 41,2 anos. No grupo controle foram 108 monoinfectados pelo HIV, 60,2% (86/108) para o sexo masculino e 39,8% (22/108) para o sexo feminino, com média de idade de 43 anos. No grupo de coinfectados houve uma associação inversa entre a mediana de linfócitos T CD4+ independente do uso de TARV ( $p < 0,006$ ), em qualquer combinação de drogas ( $p < 0,0018$ ) e na combinação de inibidor de transcriptase reversa nucleosídica (ITRN) + inibidor de transcriptase reversa não nucleosídica (ITRNN) ( $p < 0,003$ ). Por outro lado, não foi evidenciada associação entre a contagem de CD4 e a combinação ITRN + inibidor de protease (IP), bem como entre a carga viral do HIV e do GBV-C. Os resultados demonstram que a coinfeção GBV-C/HIV parecer não sofrer interferência da TARV.

Palavras-chave: HIV. GB vírus C. Coinfecção. HAART.

## ABSTRACT

---

Infection of GB virus type C (GBV- C) is common in people living with HIV/AIDS due to sharing of the transmission routes. However, if the coinfecteds have a more favorable response than monoinfected to the antiretroviral treatment is still a question. The aim of this study was to investigate the association between count CD4<sup>+</sup> lymphocytes and viral load of HIV in infected with GBV- C, with or without HAART. Blood samples from people living with HIV/AIDS and attending the outpatient clinics of the university hospital (Universidade Federal de Pernambuco - UFPE) from July to December 2011 were used. The blood samples, as well as data on sex, age and viral load of GBV-C were obtained from the serum bank and the archives of the Department of Virology Laboratory of Immunopathology Keizo Asami (LIKA) UFPE. The count CD4<sup>+</sup> lymphocytes and viral load of HIV were obtained from patients' records. This is a descriptive study analyzed as case-control, we studied 142 patients there are more than 48 months after diagnosis, 86 (60.6%) were male and 56 (39.4%) females, with a mean age of 43 years. The cases were 34 patients coinfecteds GBV-C/HIV, 61.8% (21/34) were male and 38.2 (13/34) females, with a mean age of 41.2 years. The controls were 108 monoinfected HIV, 60.2% (86/108) were males and 39.8% (22/108) females, with a mean age of 43 years. In the coinfecteds group there was an inverse association between the median T CD4<sup>+</sup> lymphocytes independent of HAART (p 0.006), any combination of drugs (p 0.0018) and the combination of nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI) + non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI) (p 0.003). On the other hand, no association was observed between count CD4<sup>+</sup> lymphocytes and the combination of NRTI + protease inhibitor (PI) as well as between the viral load of HIV and GBV-C. The results demonstrate that coinfection GBV-C/HIV seem not suffer interference from HAART.

Keywords: HIV. GB virus C. Coinfection. HAART.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

---

Figura 01.	Esquema representativo da estrutura dos genomas do GBV-C (A) e do HIV-1 (B).....	14
Figura 02.	Esquema representativo dos mecanismos propostos de inibição do HIV durante a coinfeção.....	16
Figura 03.	Prevalências do GBV-C em doadores de sangue.....	17

## LISTA DE TABELAS

---

---

Tabela 01.	Associação da mediana da contagem de linfócito T CD4+ entre os casos e controle, de acordo com os grupos de pessoas vivendo com HIV/aids, com diagnóstico superior a 48 meses em uso ou não de TARV.....	24
Tabela 02.	Associação da mediana da carga viral do HIV entre os casos e controle, de acordo com os grupos de pessoas vivendo com HIV/aids, com diagnóstico superior a 48 meses em uso ou não de TARV.....	25

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

---

AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
CCR5	Receptor de quimiocina CC do tipo 5
CD4	Grupamento de diferenciação 4, do inglês <i>cluster of differentiation 4</i>
CXCR4	Receptor de quimiocina CXC do tipo 4
DIP	Doenças Infecciosas e Parasitárias
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ELISA	Ensaio imunoenzimático, do inglês <i>Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay</i>
GBV-C	GB vírus tipo C
HC	Hospital das clínicas
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IP	Inibidores da Protease
ITRN	Inibidores de Transcriptase Reversa Nucleosídica
ITRNN	Inibidores de Transcriptase Reversa Não Nucleosídica
LIKA	Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami
PCR	Reação em cadeia da polimerase, do inglês <i>Polymerase Chain Reaction</i>
RNA	Ácido ribonucleico
TARV	Terapia Antirretroviral
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

## SUMÁRIO

---

---

1 Introdução.....	13
2 Revisão de literatura.....	14
2.1 Características gerais do GB vírus tipo C (GBV-C).....	14
2.2 Imunologia da coinfeção HIV/GBV-C.....	15
2.3 Coinfeção GBV-C/HIV.....	16
3 Objetivos.....	20
3.1 Objetivo geral.....	20
3.2 Objetivos específicos.....	20
4 Metodologia.....	21
4.1 Desenho do estudo.....	21
4.2 Critérios de inclusão.....	21
4.3 Critérios de exclusão.....	21
4.4 Tipo de amostragem .....	21
4.5 Definição e categorização das variáveis.....	22
4.5.1 Contagem de células de linfócitos T CD4+, carga viral do HIV e do GBV-C.....	22
4.5.2 As Variáveis: sexo, idade e carga viral do GBV-C.....	22
4.6 Análises estatísticas.....	22
4.7 Considerações éticas.....	23
5 Resultados.....	24
6 Discussão.....	26
7 Conclusão.....	28
8 Recomendações e considerações finais .....	29
Referências .....	30
Apêndice.....	33
Apêndice A – Artigo científico	
Anexos.....	45
Anexo A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFPE	

## 1 Introdução

A infecção do GB vírus tipo C (GBV-C) é frequente em pessoas vivendo com HIV/aids devido ao compartilhamento das vias de transmissão. As taxas de prevalência desta coinfeção variam de 15 a 40% de acordo com o grau de desenvolvimento da região (TILLMANN et al., 2001; KOZAL et al., 2002; NUNNARI et al., 2003). Estudos chamam a atenção para um efeito benéfico sobre a progressão e sobrevida dos indivíduos com essa coinfeção (TILLMANN et al., 2001; XIANG et al., 2004; STAPLETON et al., 2004). Assim, surgem cada vez mais trabalhos que explicam o mecanismo dessa progressão e interação GBV-C/HIV com o uso de antirretrovirais.

A hipótese que o GBV-C promove progressão mais lenta da doença pelo HIV está sustentada por trabalhos que demonstram uma associação direta entre a contagem de linfócitos T CD4 e a infecção pelo GBV-C (TILLMANN et al., 2001; XIANG et al., 2004; STAPLETON et al., 2004). Para Heringlake et al. (1998), o GBV-C representa um prognóstico favorável para os pacientes com HIV.

Xiang et al. (2000) e George et al. (2006) concluíram que a replicação do GBV-C ocorre nos linfócitos T CD4 e sugerem que este fato pode interferir na replicação do HIV. Tillmann et al. (2001) demonstraram maior carga viral do GBV-C, menor carga viral do HIV e maior tempo para o desenvolvimento da síndrome da imunodeficiência adquirida (aids) nos coinfectados, além da redução da mortalidade dos pacientes após a terapia antirretroviral combinada (TARV). Heringlake et al. (1998) também encontraram relação inversamente proporcional entre as cargas virais, sendo que a do GBV-C aumentou em todos os pacientes que tinham iniciado a TARV.

No entanto, a proposta de que os coinfectados têm uma resposta mais favorável ao tratamento com antirretrovirais do que os monoinfectados ainda é controversa. Nunnari et al. (2003) e Rodriguez et al. (2003), em seus respectivos estudos de coorte, sugerem que os coinfectados em uso da TARV são mais propensos a obter uma resposta virológica completa e um aumento de células CD4. Em contraste, Brumme et al. (2002) não demonstraram associação entre o GBV-C e a resposta virológica ou imunológica com a TARV.

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi verificar a associação da contagem de linfócitos T CD4 e carga viral do HIV em pessoas infectadas pelo GBV-C fazendo uso ou não de TARV.

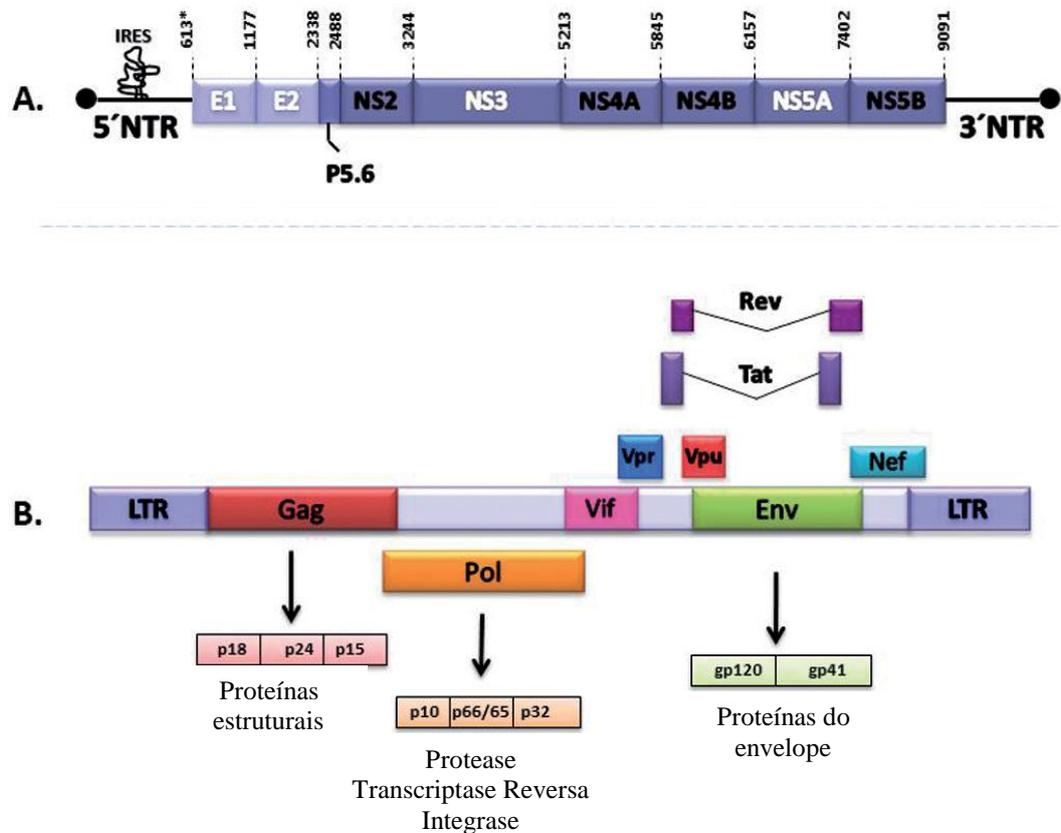
## 2 Revisão de literatura

Abaixo serão apresentados os principais aspectos da coinfeção GBV-C/HIV.

### 2.1 Características gerais do GB vírus tipo C (GBV-C)

É um vírus linfotrópico humano descoberto em 1995 que pertence à família *Flaviviridae*, com genoma contendo RNA fita simples com polaridade positiva e aproximadamente 9400 nucleotídeos, os quais apresentam as regiões codificadoras de proteínas estruturais E1 e E2, glicoproteínas do envelope e regiões codificadoras de proteínas não estruturais, NS2, NS3, NS4A, NS4BB, NS5A e NS5B, contendo também uma região não codificadora 5' (NTR) (Figura 1) (SIMONS et al., 1996).

**Figura 1.** Esquema representativo da estrutura dos genomas do GBV-C (A) e do HIV-1 (B).



Fonte: Adaptado de ARROYAVE et al., 2013.

A infecção pelo GBV-C ainda não foi associada a qualquer doença, no entanto, alguns estudos encontraram uma associação entre infecção do GBV-C e uma melhora na sobrevivência de pessoas vivendo com HIV/Aids (LEFRÈRE et al., 1999; YEO et al., 2000; TILLMANN et al., 2001; XIANG et al., 2001; WILLIAMS et al. 2004).

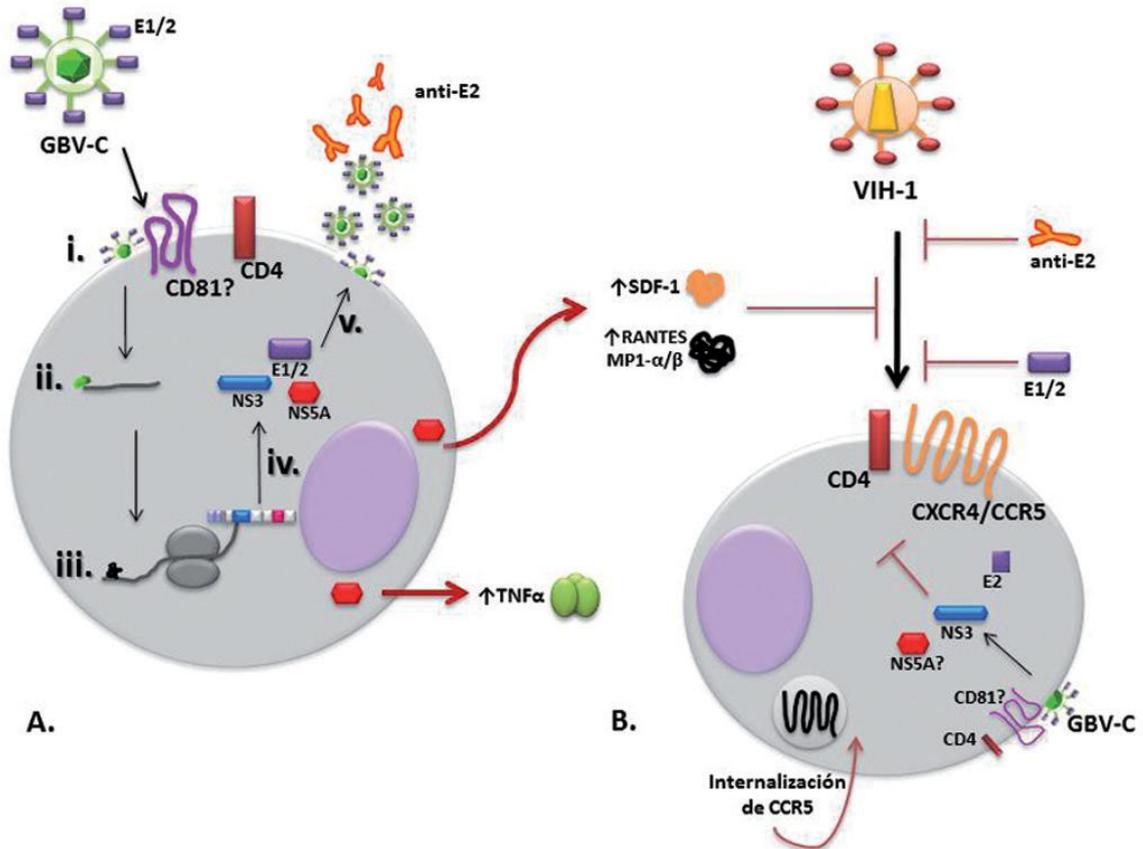
### **2.3 Imunologia da coinfeção HIV/GBV-C**

Vários trabalhos tentam explicar os mecanismos que atuam na coinfeção, pois ainda não está esclarecido se existe ou não benefícios para os pacientes HIV positivos com a infecção pelo GBV-C.

Spellberg, Edwards (2001) indicam que a progressão para aids está relacionada com incapacidade das células mononucleares em produzir citocinas do perfil TH1 (IL-2, IL-12, IFN- $\gamma$ ) e promoverem a produção de citocinas da resposta TH2 (IL-4 e IL-10).

Alguns trabalhos explicam a associação entre os dois vírus através da interação do vírus do HIV e os correceptores CCR5 e CXCR4, receptores para as cepas de HIV R5 e X4 respectivamente (NUNNARI et al., 2003; XIANG et al., 2004). Nattermann et al. (2003) verificaram em pacientes homozigóticos para CCR5, que os níveis deste correceptor estava reduzido em linfócitos T CD4 e CD8 em indivíduos GBV-C infectados, independentemente de ser coinfectado com o vírus HIV. A figura 3 ilustra alguns mecanismos propostos na interação HIV e GBV-C.

**Figura 2.** Esquema representativo dos mecanismos propostos de inibição do HIV durante a coinfeção.



Fonte: Adaptado de ARROYAVE et al., 2013.

## 2.2 Coinfeção GBV-C/HIV

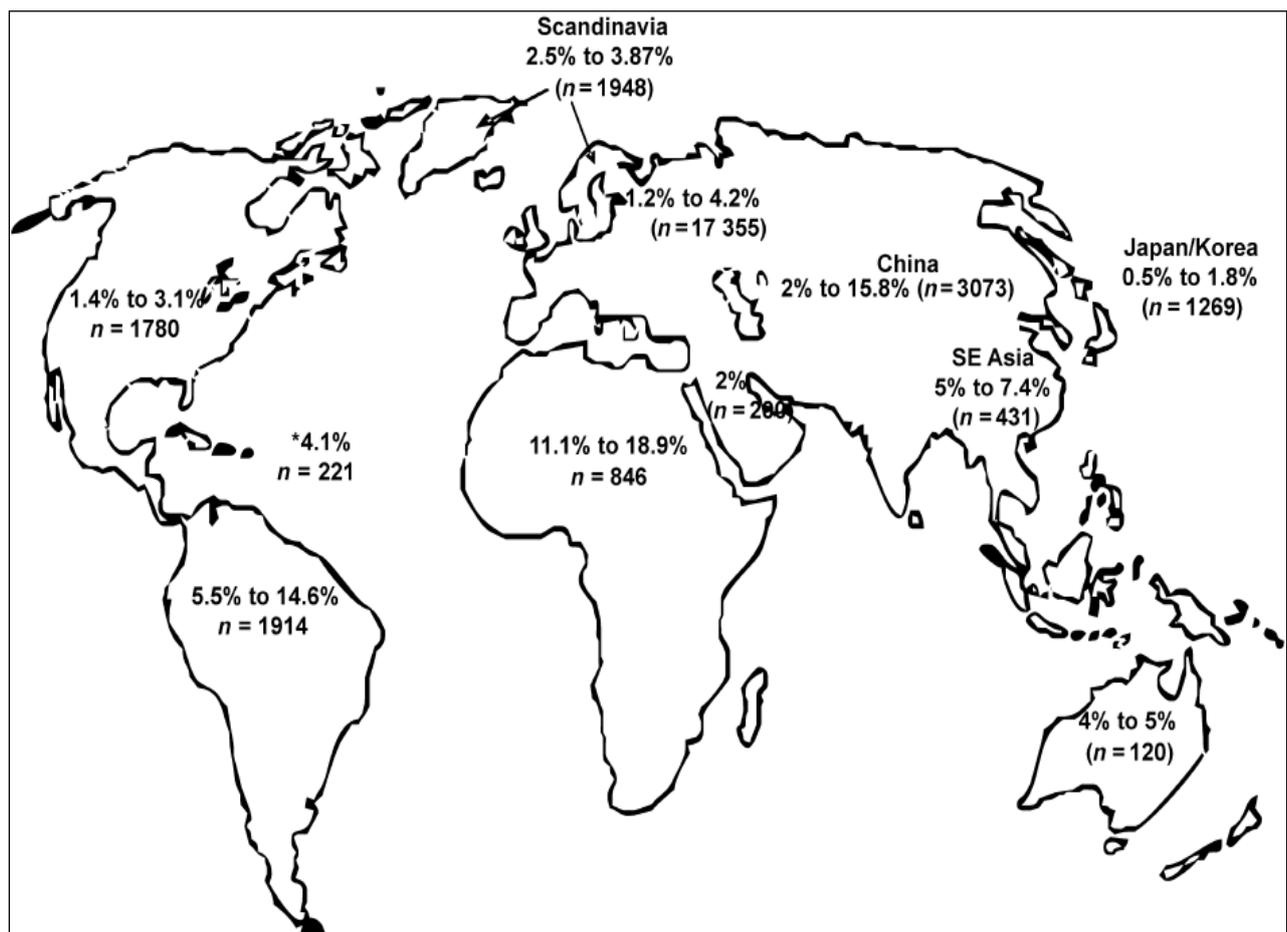
A infecção do GBV-C é frequente em pessoas vivendo com HIV/aids devido ao compartilhamento das vias de transmissão, podendo ser transmitido através da relação sexual, da via parenteral e vertical. Dentre as vias de transmissão do GBV-C, a relação entre homens que fazem sexos com homens apresenta maior probabilidade de transmissão (FREY et al., 2002).

Supapol et al. (2008) realizaram um estudo de coorte abordando a transmissão vertical em 262 gestantes coinfectadas e 41% dos recém-nascidos apresentaram o GBV-C. Também houve aumento da transmissão vertical do GBV-C mesmo quando a mãe tinha usado o

antirretroviral (azidovudina) durante a gestação, enquanto houve uma diminuição da transmissão do HIV.

As taxas de prevalência da coinfeção GBV-C/HIV variam de 15 a 40% (TILLMANN et al., 2001; KOZAL et al., 2002; NUNNARI et al., 2003), podendo chegar em 80% quando se soma a prevalência do GBV-C RNA positivos e presença do anti-E<sub>2</sub> (HERINGLAKE et al., 1998; TILLMANN et al., 2001; VAN DER BIJ et al., 2005). Assim, a prevalência do GBV-C em pessoas vivendo com HIV/aids é elevada, quando comparada com a presença da infecção do GBV-C em doadores de sangue saudáveis, cuja a taxa de prevalência varia entre 0,5 a 5% nos países desenvolvidos e de 5 a 18,9% nas nações em desenvolvimento, como apresentado na figura 2 (MOHR et al., 2009).

**Figura 3.** Prevalências do GBV-C em doadores de sangue.



Fonte: MOHR, STAPLETON, 2009.

Artigos publicados associam o GBV-C à progressão mais lenta da doença pelo HIV em indivíduos coinfectados, com sobrevida maior e uma progressão mais lenta para a imunodeficiência quando comparados com monoinfectados pelo HIV (LEFRÈRE et al., 1999; YEO et al., 2000; TILLMANN et al., 2001; XIANG et al., 2001; WILLIAMS et al. 2004).

Heringlake et al. (1998) sugeriram que indivíduos com viremia do GBV-C progrediam lentamente para aids e tinham sobrevida maior mesmo após a instalação da imunodeficiência, além de encontrarem uma relação inversamente proporcional entre as cargas virais dos vírus sendo que a carga viral do GBV-C aumentou em todos os pacientes que tinham iniciado a TARV.

Em 1999, Lefrère et al., na França, corroboraram o achado de que indivíduos com viremia do GBV-C progrediam lentamente para aids, com maior sobrevida mesmo após a instalação da imunodeficiência.

Rodriguez et al. (2003) avaliaram se a coinfecção afeta a resposta à TARV em 146 pacientes, sendo 64 coinfectados e mostraram que esses apresentaram com maior frequência uma resposta virologia completa comparada aqueles que tinham um maior aumento na contagem média de células CD4 e uma diminuição na mediana do nível do HIV-RNA, ou seja, os coinfectados apresentaram melhor resposta à TARV e aos indicadores imunológicos e virológicos mais favoráveis ao HIV.

Da mesma forma Antonucci et al. (2005) sugerem um efeito benéfico na interação HIV/GBV-C, semelhante ao efeito benéfico observado entre os pacientes não tratados e tratados com TARV.

Vahidnia et al. (2012) concluíram que a viremia do GBV-C está associada com uma menor mortalidade em infectados com o HIV, após o ajuste para o status TARV o nível de RNA do HIV e contagem de células CD4 no início do estudo.

Por outro lado, uma pesquisa sueca com 157 pacientes coinfectados com GBV C, em uso de TARV e profilaxia para pneumocistose, não mostrou benefício na progressão da doença (Birk et al., 2002).

Em uma coorte retrospectiva canadenses com 441 pacientes HIV-1 que iniciaram monoterapia não evidenciou melhora quando da coinfecção pelo GBV-C, mesmo com o uso da terapia com três drogas, em mais de 80% dos pacientes não houve prognóstico favorável. Os autores não encontraram associação entre a detecção do GBV-C RNA no plasma e a resposta inicial para a terapia antirretroviral, sugerindo que em coinfectados, o GBV-C não

influência significativamente na resposta a terapia e que os antirretrovirais reduzam a viremia do HIV e do GBV-C (BRUMME et al., 2002).

Björkman et al. (2004) concluíram que a infecção pelo GBV-C seria um fenômeno secundário à progressão do HIV-1, ao invés de um fator prognóstico, após avaliarem 230 infectados pelo HIV-1, com diagnóstico de no máximo dois anos, sendo os mesmos seguidos até o início da TARV, morte ou sua última visita à clínica do grupo de pesquisa.

Van der Bij et al. (2005) analisaram 326 homossexuais masculinos com HIV-1 e concluíram que a coinfeção com GBV-C estaria vinculada ao número de células T CD4+ circulantes e que, a depuração do GBV-C, seria consequência da redução de células T CD4+ e não, o causador.

Ainda segundo Sheng et al. (2007) a persistência da viremia do GBV-C não confere benefícios a curto prazo em pacientes em uso da TARV.

Portanto, em face de discordância entre os estudos sobre essa temática fomos motivados a realizar a presente pesquisa.

### 3 Objetivos

Abaixo estão descritos os objetivos gerais e específicos avaliados neste trabalho.

#### 3.1 Objetivo geral

Verificar a associação da contagem de linfócitos T CD4+ e carga viral do HIV em pessoas coinfectadas GBV-C/HIV com ou sem uso de TARV em Recife-PE, no período julho a dezembro de 2011.

#### 3.2 Objetivos específicos

Em pessoas monoinfectadas (HIV) e coinfectadas (GBV-C + HIV):

- Verificar a associação da contagem de linfócitos T CD4+ e carga viral do HIV independente do uso de TARV;
- Verificar a associação da contagem de linfócitos T CD4+ e carga viral em HIV com qualquer combinação de drogas da TARV;
- Verificar a associação da contagem de linfócitos T CD4+ e carga viral do HIV com o uso das drogas ITRN + IRTNN e ITRN + IP.

## **4 Metodologia**

Abaixo estão descritos todos os procedimentos metodológicos executados neste trabalho.

### **4.1 Desenho do estudo**

Representou um estudo descritivo analisado como caso-controle.

### **4.2 Critérios de inclusão**

Pessoas vivendo com HIV/aids acompanhados no Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias do HC-UFPE.

Indivíduos maiores de dezoito anos de idade.

### **4.3 Critérios de exclusão**

Pessoas vivendo com HIV/aids acompanhados no Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias do HC-UFPE mas procedentes de outro estado.

Pessoas que tiveram diagnóstico de HIV nos 03 meses anteriores a data da entrevista.

Pacientes com indicação de internamento pelo médico assistente.

### **4.4 Tipo de amostragem**

Foram utilizadas neste estudo amostras sanguíneas de pacientes provenientes do projeto de pesquisa intitulado “Coinfecção GB vírus C e HIV em pacientes acompanhados no serviço de doenças infecciosas e parasitárias do HC-UFPE em 2011” desenvolvido no Setor de Virologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA).

Dos 249 pacientes que integram o banco de dados, foram incluídos neste estudo 142 que representavam indivíduos com diagnóstico para HIV com mais de 48 meses, caracterizando infecção tardia.

Das 142 amostras analisadas, 34 foram caracterizadas como coinfetadas GBV-C/HIV e 108 monoinfectadas pelo HIV. Foram definidos como caso as pessoas vivendo com

HIV/aids que apresentaram positividade para o GBV-C RNA, na PCR em tempo real e como controle as pessoas vivendo com HIV/aids que não apresentaram positividade para o GBV-C RNA, na PCR em tempo real.

Para melhor compreensão das análises, essas amostras foram divididas em quatro grupos caracterizadas da seguinte forma:

Grupo I: Todos os pacientes, independente do uso da TARV.

Grupo II: Pacientes com qualquer combinação de drogas da TARV.

Grupo III: Combinação de ITRN + ITRNN.

Grupo IV: Combinação de ITRN +IP.

#### **4.5 Definição e categorização das variáveis**

As variáveis foram definidas e categorizadas conforme abaixo.

##### **4.5.1 Contagem de células de linfócitos T CD4+, carga viral do HIV e do GBV-C**

A contagem de CD4 e carga viral foram obtidas a partir dos prontuários dos pacientes. O número de linfócitos T CD4+ foi expresso em células/mm<sup>3</sup>, por citometria de fluxo e a quantificação do RNA do HIV foi realizada a partir do plasma, por branched DNA (b-DNA), expressa em cópias/μL. A quantificação do RNA do GBV-C no plasma, por PCR em tempo real, expressa em cópias/μL.

##### **4.5.2 As variáveis: sexo, idade e carga viral do GBV-C**

Estas variáveis foram obtidas a partir dos arquivos do Setor de Virologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

#### **4.6 Análises estatísticas**

Foram realizadas a partir do banco de dados construído no software EPI-INFO versão 6.04, e utilizando os testes estatísticos do chi quadrado e teste exato de Fisher, sendo considerados estatisticamente significativos os resultados que apresentarem o valor de *p* menor que 0,05.

#### **4.7 Considerações éticas**

Este projeto faz parte de uma pesquisa maior, que já teve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFPE, sob o registro 301/11 (anexo A), não havendo a necessidade de coletar novas amostras.

## 5 Resultados

Entre as 142 pessoas vivendo com HIV/aids há mais de 48 meses de diagnóstico, 86 (60,6%) eram do sexo masculino e 56 (39,4%) do sexo feminino. A média de idade foi de 43 anos, variando de 34 a 52 anos.

Foram considerados como caso 34 pacientes coinfectados GBV-C/HIV e como controle 108 monoinfectados pelo HIV. Nos coinfectados GBV-C/HIV, 61,8% (21/34) eram do sexo masculino e 38,2% (13/34) do sexo feminino, com média de idade de 41,2 anos (DP = 7,8). E no grupo controle 60,2% (86/108) eram do sexo masculino e 39,8% (22/108) do sexo feminino, com média de idade de 43 anos (DP = 9,3).

A tabela 1 mostra a mediana da contagem de linfócitos T CD4+ nos casos e controles, após 48 meses de diagnóstico do HIV, de acordo com uso ou não da TARV.

**Tabela 1. Associação da mediana da contagem de linfócito T CD4+ entre os casos e controle, de acordo com os grupos de pessoas vivendo com HIV/aids, com diagnóstico superior a 48 meses em uso ou não de TARV.**

Variável	Linfócito T CD4+ (cels/ $\mu$ l)				P
	Caso (GBV-C +)		Controle (GBV-C -)		
	%	n	%	n	
<b>Grupo I</b>	482	23,94	664	76,06	0,006
	(89-1333)	(34/142)	(53-2107)	(108/142)	
<b>Grupo II</b>	512	22,46	660	77,54	0,0018
	(89-1333)	(31/138)	(53-2107)	(107/138)	
<b>Grupo III</b>	562	18,31	754	81,69	0,003
	(255-911)	(13/71)	(138-1602)	(58/71)	
<b>Grupo IV</b>	485	23,17	608	76,83	0,18
	(89-1333)	(19/82)	(53-2107)	(63/82)	

Grupo I: todos os pacientes, ou seja, com e ou sem uso de TARV; Grupo II: pacientes com qualquer combinação de drogas da TARV; Grupo III: combinação de ITRN + ITRNN; Grupo IV: combinação de ITRN + IP.

A tabela 2 mostra a mediana da carga viral do HIV nos casos e controles, após 48 meses de diagnóstico do HIV, de acordo com uso ou não da TARV.

**Tabela 2. Associação da mediana da carga viral do HIV entre os casos e controle, de acordo com os grupos de pessoas vivendo com HIV/aids, com diagnóstico superior a 48 meses em uso ou não de TARV.**

Variável	Carga viral do HIV (cópias/mL)				P
	Caso (GBV-C +)		Controle (GBV-C -)		
		% n		% n	
<b>Grupo I</b>	30,138 ( $<40-9,6 \times 10^6$ )	23,94 (34/142)	36,000 ( $<40-10^7$ )	76,06 (108/142)	0,97
<b>Grupo II</b>	48,000 ( $<40-9,6 \times 10^6$ )	22,46 (31/138)	38,000 ( $<40-10^7$ )	77,54 (107/138)	0,80
<b>Grupo III</b>	48,000 (543-750,000)	18,31 (13/71)	36,000 ( $<40-750,000$ )	81,69 (58/71)	0,91
<b>Grupo IV</b>	43,900 ( $<40-9,6 \times 10^6$ )	23,17 (19/82)	54,000 ( $<40-10^7$ )	76,83 (63/82)	0,89

Grupo I: todos os pacientes, ou seja, com e ou sem uso de TARV; Grupo II: pacientes com qualquer combinação de drogas da TARV; Grupo III: combinação de ITRN + ITRNN; Grupo IV: combinação de ITRN + IP.

## 6 Discussão

O GBV-C tem distribuição mundial e vias de transmissão compatíveis com o HIV. Devido aos possíveis benefícios atribuídos ao GBV-C em pessoas coinfectadas GBV-C/HIV, como inibição da replicação do HIV (XIANG et al., 2011) e progressão mais lenta para aids (XIANG et al., 2001; STAPLETON et al., 2003; WILLIAMS et al., 2004), esse vírus tem sido objeto de estudo de vários grupos de pesquisas.

Nesse trabalho discutiu-se aspectos referentes à infecção pelo GBV-C em pessoas vivendo com HIV/aids, há mais de 48 meses de diagnóstico do HIV, os quais foram divididos em quatro grupos de acordo com o tipo de TARV. Inicialmente foram analisados os dados de indivíduos com diagnóstico para HIV com menos de 24 meses conforme trabalhos dos autores (LEFRERE et al., 1999; BIRK et al., 2002; WILLIAMS et al., 2004; BJÖRKMAN et al., 2004; VAN DER BIJ et al., 2005) e com mais de 24 meses conforme outros estudos (TOYODA et al., 1998; TILLMANN et al., 2001; XIANG et al., 2001; WILLIAMS et al., 2004). Nesses dois intervalos a infecção pelo HIV foi caracterizada em fase inicial e tardia. Contudo a análise dessas duas fases, no presente estudo, não demonstrou significância estatística e por isso foi utilizado apenas o critério de infecção tardia de indivíduos com diagnóstico para HIV há mais de 48 meses.

A associação inversa entre a mediana de linfócitos TCD4+ e a infecção pelo GBV-C, encontrada no grupo I, constituído por pessoas vivendo com HIV/aids com ou sem uso de TARV, corrobora os estudos que demonstraram uma maior contagem de linfócitos T CD4 em pessoas monoinfectadas, sugerindo o caráter indolente do vírus (VAN DER BIJ et al., 2005; TILLMANN et al., 2005; BJÖRKMAN et al., 2007).

No grupo II onde havia qualquer combinação de drogas na TARV, houve também associação inversa entre a mediana de linfócitos TCD4+ e a infecção pelo GBV-C, em consonância com trabalhos (VAN DER BIJ et al., 2005; TILLMANN et al., 2005; BJÖRKMAN et al., 2007). Embora, Tillmann e colaboradores, em 2001, tenha sugerido um efeito benéfico desta coinfeção.

Por outro lado, vários trabalhos defendem a atuação benéfica do GBV-C, afirmando que o mesmo retarda a progressão para aids (LINNEN et al., 1996; YEO et al., 2000; TILLMANN et al., 2001; STAPLETON et al., 2003; ZHANG et al., 2006; NUNNARI et al., 2007; GIRET et al., 2011). O GBV C teria um efeito benéfico em pessoas coinfectadas, principalmente naquelas que não estivessem fazendo uso de TARV (ERNST et al., 2013).

No grupo III, o uso de drogas como ITRN + ITRNN mostrou associação inversa entre a mediana de linfócitos TCD4+ e a infecção pelo GBV-C, porém não há trabalhos comparativos para esse grupo. Nossos resultados podem indicar que o GBV-C realmente seja indolente ou que tenha sua ação prejudicada pela TARV, principalmente pela combinação ITRN + ITRNN. Esse pensamento estaria em consonância com uma coorte de 20 anos (ERNST et al., 2013), ainda que com resultados divergentes, pois esses autores encontraram associação direta entre linfócitos T CD4 e a infecção pelo GBV-C.

No grupo IV houve associação inversa entre a mediana de linfócitos TCD4+ e a infecção pelo GBV-C, entretanto os dados não foram estatisticamente significantes nesse grupo. Há várias causas que possam ter prejudicado a investigação com relação ao uso de IP, relacionadas principalmente ao tipo e número de IPs diferentes que os indivíduos possam ter feito uso e até fatores intrínsecos a possíveis esquemas de resgates.

Com relação a não associação entre a carga viral do HIV e a presença de infecção pelo GBV-C, nos quatro grupos estudados, podemos atribuir ao tipo de estudo realizado diferentemente de outros (VAN DER BIJ et al., 2005; BJÖRKMAN et al., 2007), que acompanharam os indivíduos em coortes prospectivas e puderam evidenciar associação inversa entre as cargas virais.

Adicionalmente, um trabalho em 2013 sugeriu que a carga viral do HIV diminui nos pacientes GBV-C positivo por mecanismo de interação sinérgica entre os dois vírus e, que esse efeito benéfico desaparece com o uso da TARV (ERNST et al., 2013). Isso não foi evidenciado em nosso estudo provavelmente devido ao pequeno número de indivíduos sem uso de TARV.

Em conclusão, o estudo mostrou associação inversa entre a contagem de linfócitos TCD4+ e GBV-C em pessoas vivendo com HIV/aids independente do uso e de qualquer combinação de drogas da TARV e ausência de associação entre a carga viral do HIV e a presença de infecção GBV-C. No entanto, a introdução do inibidor de protease na TARV não mostrou associação nem com os linfócitos T CD4+ nem com as cargas virais. Estes resultados ressaltam a necessidade de realização de outros trabalhos de coorte para compreender melhor os fatores envolvidos na transmissão de GBV-C em pacientes com HIV/aids e na existência de benefícios desta coinfeção.

## 7 Conclusão

Houve associação inversa da contagem dos linfócitos TCD4 e GBV-C em pessoas vivendo com HIV/aids independente da combinação de drogas usadas na TARV.

A combinação da ITRN + IP não mostrou associação com a contagem de CD4.

Não houve associação da carga viral do HIV e GBV C nos grupos estudados.

## **8 Recomendações e considerações finais**

Face à discordância dos estudos sobre essa temática torna-se necessário a realização de pesquisas, principalmente de coortes prospectivas para melhor compreensão de mecanismos biológicos da interação entre o GBV-C e o HIV, o que poderá ser importante para abordagens terapêuticas.

## Referências

ANTONUCCI, G. et al. Response to HAART and GB virus type C coinfection in a cohort of antiretroviral-naive HIV-infected individuals. *Antiviral Therapy*, v. 10, n. 1, p. 109–17, 2005.

BIRK, M. et al. No influence of GB virus C replication on the prognosis in a cohort of HIV-1-infected patients. *Aids*, v.16, n.18, p. 2482-85, 2002.

BJÖRKMAN, P. et al. GB virus C during the natural course of HIV-1 infection:viremia at diagnosis does not predict mortality. *Aids*, v. 18, p. 877–886, 2004.

BRUMME, Z. L. et al. No association between GB vírus C viremia and virological or immunological failure after starting initial antiretroviral therapy. *Aids*, v.16, p. 1929-33, 2002.

FREY SE. et al.Homan SM, Sokol-Anderson M, et al. Evidence for Probable Sexual Transmission of the Hepatitis G Virus. *Clinical Infectious Diseases*, v. 34, n. 8, p. 1033–8, 2002.

GEORGE, S. L. et al. The GB Virus C (GBV-C) NS3 Serine Protease Inhibits HIV-1 Replication in a CD4+ T Lymphocyte Cell Line without Decreasing HIV Receptor Expression. *Plos One*, v. 7, p. 1-9, 2012.

GEORGE, S.L.; VARMAZ, D.; AND STAPLETON, J. T. et al. GB Virus C Replicates in Primary T and B Lymphocytes. *J Infect Dis*, v.193, n.3, p.451--4, 2006.

HERINGLAKE, S. et al. GB virus C/ hepatitis G virus infection: a favorable prognostic factor in human immunodeficiency virus-infected patients? *J Infect Dis*, v.177, p.1723-6, 1998.

KOZAL, M.J. et al. Prevalence of HIV and GBV-C coinfection and the likelihood of genotypic resistance development. *9<sup>th</sup> Conference on Retroviruses & Opportunistic Infections*, abstract 671, 2002.

LEFRÈRE, J. J. et al. Carriage of GB Virus C/Hepatitis G Virus RNA Is Associated with a Slower Immunologic, Virologic, and Clinical Progression of Human Immunodeficiency Virus Disease in Coinfected Persons. *J Infect Dis*, v.179, n.4, p.783–9, 1999.

MOHR, E. L.; STAPLETON, J. T. GB virus type C interactions with HIV: the role of envelope glycoproteins. *J. Viral Hepatitis*, v.16, p. 757-68, 2009.

NUNNARI, G. et al. Slower Progression of HIV-1 Infection in Persons with GB Virus C Co-Infection Correlates with an Intact T-Helper 1 Cytokine Profile. *Ann Intern Med*, v.139, p.26-30, 2003.

RIBEIRO-DOS-SANTOS G. et al. Prevalence of GB virus C (hepatitis G virus) and risk factors for infection in Sao Paulo, Brazil. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, v.21, n.6, p.438-43, 2002.

RODRIGUEZ, B. et al. Effect of GB virus C coinfection on response to antiretroviral treatment in human immunodeficiency virus-infected patients. *Journal of Infectious Diseases*, v. 187, p. 504–7, 2003.

SHENG et al. Clinical Impact of GB Virus C Viremia on Patients with HIV Type 1 Infection in the Era of Highly Active Antiretroviral Therapy. *Clinical Infectious Diseases*, v. 44, n. 4, p.584-90, 2007.

SIMONS, J. N. et al. Translation initiation in GB viruses A and C: evidence for internal ribosome entry and implications for genomic organization. *J Virol*, v.70, n.61, p.26-35, 1996.

STAPLETON, J. T. et al. GB Virus Type C: a Beneficial Infection? *J Clin Microbiol*, v. 42, p. 3915–19, 2004.

SUPAPOL, W. B. et al. Reduced mother-to-child transmission of HIV associated with infant but not maternal GB virus C infection. *J Infect Dis*, v.197, p.1369 –77, 2008.

TILLMANN, H. L. et al. Antibodies against the GB virus C envelope 2 protein before liver transplantation protect against GB virus C de novo infection. *Hepatology*, v.28, p. 379-84, 1998.

TILLMANN, H. L. et al. Infection with GB virus C and reduced mortality among HIVinfected patients. *N Engl J Med*, v.345, p.715-24, 2001.

VAHIDNIA, F. et al. Acquisition of GB Virus Type C and Lower Mortality in Patients With Advanced HIV Disease. *Clinical Infectious Diseases*, v.55, n.7, p.1012-19, 2012.

VAN DER BIJ, A. K. et al. GB Virus C Coinfection and HIV-1 Disease Progression: The Amsterdam Cohort Study. *J Infect Dis*, v. 191, p.678–85, 2005.

WILLIAMS, C. F. et al. Persistent GB Virus C Infection and Survival in HIV Infected Men. *N Engl J Med*, v.350, n.10, p.981-90, 2004.

XIANG, J. et al. FulllengthGB virus C (hepatitis G virus) RNA transcripts are infectious in primary CD4-positive T cells. *J Virol*, v.74, n.91, p.25-33, 2000.

XIANG, J. I. et al. Effect of coinfection with GB virus on survival among patients with HIV infection. *N Engl J Med*, v.345, n.10, p.707-14, 2001.

XIANG, J. I. et al. Inhibition of HIV-1 replication by GB virus C infection through increases in RANTES, MIP-1 alpha, MIP-1 beta and SDF-1. *Lancet*, v.363, n.9426, p. 2040-6. 2004.

YEO, A. E. T. et al. Effect of hepatitis G virus infection on progression of HIV infection in patients with hemophilia: Multicenter Hemophilia Cohort Study. *Ann Intern Med*, v.132, p.959-63, 2000.

## **Apêndice A**

### **Artigo científico**

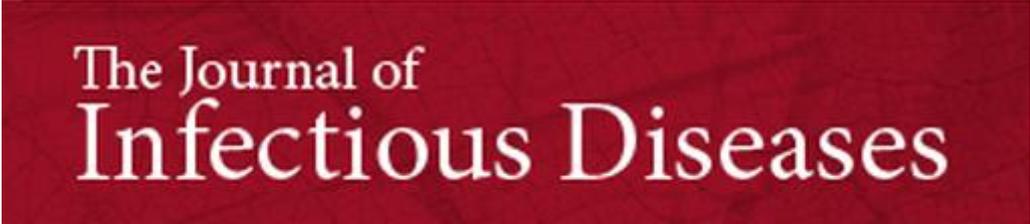
The Journal of Infectious Diseases

Instruções para os autores disponível em:

[http://www.oxfordjournals.org/our\\_journals/jid/for\\_authors/](http://www.oxfordjournals.org/our_journals/jid/for_authors/)

Editor-in-Chief: Martin Hirsch, M.D.

Impact Factor: 5.778



The Journal of  
**Infectious Diseases**

## Association of T CD4+ lymphocytes and viral load of HIV with a coinfection GBV-C/HIV according to type of HAART

Carlos Eduardo Guimarães Padilha,<sup>1,2</sup> Evônio de Barros Campelo Júnior,<sup>1,2</sup> Viviane Martha Santos de Moraes,<sup>1,2</sup> e Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Department of Tropical Medicine, Center for Health Sciences, Federal University of Pernambuco, Recife-PE, Brazil; <sup>2</sup>Setor Virology Laboratory of Immunopathology Keizo Asami, Federal University of Pernambuco, Recife-PE Brazil; <sup>3</sup>Departamento of Physiology and Pharmacology, Center of Biological Sciences, Federal University of Pernambuco, Recife-PE, Brazil.

**Background.** Infection of GB virus type C (GBV- C) is common in people living with HIV/AIDS due to sharing of the transmission routes. However, if the coinfecteds have a more favorable response than monoinfected to the antiretroviral treatment is still a question. The aim of this study was to investigate the association between count CD4+ lymphocytes and viral load of HIV in infected with GBV- C, with or without HAART. **Methodology.** Blood samples from people living with HIV/AIDS and attending the outpatient clinics of the university hospital (Universidade Federal de Pernambuco - UFPE) from July to December 2011 were used. The blood samples, as well as data on sex, age and viral load of GBV-C were obtained from the serum bank and the archives of the Department of Virology Laboratory of Immunopathology Keizo Asami (LIKA) UFPE. The count CD4+ lymphocytes and viral load of HIV were obtained from patients' records. **Results.** This is a descriptive study analyzed as case-control, we studied 142 patients there are more than 48 months after diagnosis, 86 (60.6%) were male and 56 (39.4%) females, with a mean age of 43 years. The cases were 34 patients coinfecteds GBV-C/HIV, 61.8% (21/34) were male and 38.2 (13/34) females, with a

mean age of 41.2 years. The controls were 108 monoinfected HIV, 60.2% (86/108) were males and 39.8% (22/108) females, with a mean age of 43 years. In the coinfecting group there was an inverse association between the median T CD4+ lymphocytes independent of HAART (p 0.006), any combination of drugs (p 0.0018) and the combination of nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI) + non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI) (p 0.003). On the other hand, no association was observed between count CD4+ lymphocytes and the combination of NRTI + protease inhibitor (PI) as well as between the viral load of HIV and GBV-C. **Conclusion.** The results demonstrate that coinfection GBV-C/HIV seem not suffer interference from HAART.

### **Introduction**

Infection of GB virus type C (GBV- C) is common in people living with HIV/AIDS, since these viruses share the same transmission routes. The prevalence of GBV- C viremia in patients infected with HIV range from 15 to 40% [1-3], reaching 80% when the sum the prevalence of GBV-C ARN positive and anti- E2 [1,4,5].

Articles published associates the GBV-C with slower progression of HIV disease in coinfecting individuals, with longer survival and slower progression to immunodeficiency when compared with HIV monoinfected [1,6-9].

Studies show inverse relationship between viral load of HIV and GBV-C [1,4], indicating longer time for development of acquired immunodeficiency syndrome in coinfecting and reduction in mortality after highly active antiretroviral therapy (HAART) [1].

On the other hand, a research of coinfecting with GBV C/HIV on use HAART, showed no benefit in disease progression [10], even with the use of three drugs was not favorable

prognosis, the authors concluded that GBV-C do not significantly influence the response to antiretroviral therapy and reduce viremia of HIV and GBV-C [11]. The infection with GBV-C would be a secondary phenomenon to the progression of HIV-1 [12], rather than a prognostic factor and that the persistence of GBV- C viremia does not confer short term benefits in patients on HAART [13].

Therefore, in the face of disagreement between studies the objective of this study was to investigate the association between the count of CD4+ T lymphocytes and viral load of HIV in coinfecting GBV-C/HIV with or without use the HAART.

## **Methodology**

**Design and study population.** The study was a descriptive analyzed as case-control. The case was defined as people living with HIV/AIDS who were positive for GBV-C ARN, by real-time PCR and the control was defined as people living with HIV/AIDS who were negative for GBV- C ARN, by real-time PCR, in the period July to December 2011. We analyzed 142 samples of individuals diagnosed with HIV there are more than 48 months, characterizing late infection, 34 coinfecting with GBV-C/HIV and 108 monoinfected with HIV. To better understand the analysis, four groups were formed: group I: all patients, in other words, with and or without use the HAART; group II: patients with any drug combination HAART; group III: combination of nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI) + non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI); group IV: combination of NRTI + protease inhibitor (PI).

**Search of CD4+ lymphocytes and viral load of HIV.** This data were obtained from patients' records. The number of CD4 + lymphocytes was expressed in cells/mm<sup>3</sup>, by flow cytometry. The quantification of HIV-ARN was performed from plasma expressed in

copies/ as well as gender and age L, by branched ADN (b-ADN).

**Search GBV-C ARN.** This data were obtained from consulting the databases a research project developed in the Department of Virology Laboratory of Immunopathology Keizo Asami (LIKA), as well as gender and age, and defined by quantification of GBV-C ARN in plasma by real-time PCR, expressed in copies/ $\mu$ L.

**Statistical analysis.** This analysis were performed from the database built in EPI-INFO software version 6.04, using the chi-square statistical tests and Fisher's exact test and were considered statistically significant results that show the p-value of less than 0.05.

**Ethical considerations.** The research was approved by the Ethics Committee of UFPE research under registration 301/11, without the need to collect new samples.

## **Results**

Among the 142 people living with HIV/AIDS there are more than 48 months of diagnosis, 86 (60.6%) were male and 56 (39.4%) were female. The mean age was 43 years, range 34 to 52 years.

As case was considered 34 coinfecting with GBV-C/HIV and as control 108 monoinfected with HIV. In coinfecting GBV-C/HIV, 61.8% (21/34) were male and 38.2% (13/34) were female, with a mean age of 41.2 years (SD = 7.8). And in the control group 60.2% (86/108) were male and 39.8% (22/108) were female, with a mean age of 43 years (SD = 9.3).

Table 1 shows the median count of T CD4 + lymphocytes in cases and controls, after 48 months of HIV diagnosis, according to use or not use of HAART.

**Table 1. Association of median count of T CD4 + lymphocytes between case and control, according to the groups of people living with HIV/AIDS, AIDS there are more than 48 months of diagnosis in use or not use of HAART.**

Variable	T CD4+ lymphocytes (cels/ $\mu$ l)				P
	Case (GBV-C +)		Control (GBV-C -)		
	%	n	%	n	
<b>Group I</b>	482	23,94	664	76,06	0,006
	(89-1333)	(34/142)	(53-2107)	(108/142)	
<b>Group II</b>	512	22,46	660	77,54	0,0018
	(89-1333)	(31/138)	(53-2107)	(107/138)	
<b>Group III</b>	562	18,31	754	81,69	0,003
	(255-911)	(13/71)	(138-1602)	(58/71)	
<b>Group IV</b>	485	23,17	608	76,83	0,18
	(89-1333)	(19/82)	(53-2107)	(63/82)	

**Note:** Group I: all patients, in other words, with and or without use the HAART; Group II: patients with any drug combination HAART; Group III: NRTI + NNRTI; Group IV: combination of NRTI + PI.

Table 2 shows the median viral load of HIV in cases and controls, after 48 months of HIV diagnosis, according to use or not use of HAART.

**Table 2. Association of median viral load of HIV between case and control, according to the groups of people living with HIV/AIDS, AIDS there are more than 48 months of diagnosis in use or not ART.**

Variable	Viral load of HIV (copies/mL)				P
	Case (GBV-C +)		Control (GBV-C -)		
		% n		% n	
<b>Group I</b>	30,138 ( $<40-9,6 \times 10^6$ )	23,94 (34/142)	36,000 ( $<40-10^7$ )	76,06 (108/142)	0,97
<b>Group II</b>	48,000 ( $<40-9,6 \times 10^6$ )	22,46 (31/138)	38,000 ( $<40-10^7$ )	77,54 (107/138)	0,80
<b>Group III</b>	48,000 (543-750,000)	18,31 (13/71)	36,000 ( $<40-750,000$ )	81,69 (58/71)	0,91
<b>Group IV</b>	43,900 ( $<40-9,6 \times 10^6$ )	23,17 (19/82)	54,000 ( $<40-10^7$ )	76,83 (63/82)	0,89

Group I: all patients, in other words, with and or without use the HAART; Group II: patients with any drug combination HAART; Group III: NRTI + NNRTI; Group IV: combination of NRTI + PI.

## Discussion

The GBV-C has a worldwide distribution and transmission routes compatible with HIV. Because of the potential benefits attributed to GBV-C in coinfecting GBV-C/HIV, as inhibition of HIV replication [14] and slower progression to AIDS [8,9,15,15], this virus has been studied by several research groups.

This research was discussed aspects related to GBV-C infection in people living with HIV/AIDS there are more than 48 months of HIV diagnosis, with or without use to HAART,

who were divided into four groups according to the type HAART. Initially, the data from individuals diagnosed with HIV less than 24 months were analyzed as the research of authors [5,6,9,10,12] and more than 24 months as other studies [1,8,9,17]. These two intervals HIV infection was present in early and late phase. However the analysis of these two phases in this study was not statistically significant and because of this we were used as a criterion for late infection the individuals diagnosed with HIV for more than 48 months.

The inverse association between the median of count of T CD4+ lymphocytes and infection GBV-C, in group I, consisting of people living with HIV/AIDS, with or without use to HAART, corroborates studies that showed a higher count of T CD4+ lymphocytes in monoinfected, suggesting the indolent nature of the virus [5,18,19].

In group II, where there were any combination of drugs of HAART, there was an inverse association between the median count of T CD4+ lymphocyte and GBV-C infection, according to [5,18,19]. Although, in 2001 a research has suggested a beneficial effect of coinfection [1].

On the other hand, several studies argue for the beneficial role of GBV-C, stating that it slows progression to aids [1,3,7,15,20-22]. The GBV-C would have a beneficial effect in coinfecting, especially those who use not to HAART [23].

In group III, the use the drugs NRTI + NNRTI showed no inverse association between median of count of T CD4+ lymphocytes and GBV-C infection, but no comparative studies for this group. Our results may indicate that GBV-C is really indolent or have his action prejudiced by HAART, especially for the combination NRTI + NNRTI. According to a research in 2013, , though with differing results, they found a direct association between T CD4+ lymphocytes and GBV-C infection [23].

In group IV there was an inverse association between the median of count of T CD4+ lymphocytes and GBV-C infection, however the data were not statistically significant in this group. There are many causes that may have injured the investigation regarding the use of PI, mainly related to the type and number of PIs that different individuals may have used of or even intrinsic to potential schemes redemptions.

Regarding the lack of association between viral load of HIV and the presence of GBV-C infection in the four groups studied, this can attributed the type of study performed differently from other [5,19], who individuals were followed in prospective cohorts and could demonstrate an inverse association between viral load.

Additionally, a studied suggest that viral load of HIV decreased in patients positive for GBV-C by synergistic interaction mechanism between the two viruses and that this beneficial effect disappears with the use of HAART [23]. What may not have been evident in our study due to the small number of individuals without HAART.

In conclusion, the study showed an inverse association between the count of T CD4+ lymphocytes and GBV-C in people living with HIV/AIDS regardless of the use and in any drug combination HAART. However, the introduction of the protease inhibitor in HAART did not show association with the CD4+ or with the viral loads. We emphasize the need to perform other research of cohort to better understanding of whether or not the benefits of this coinfection.

## References

- [1] Tillmann HL, Heiken H, Knapik-Botor A. et al. Infection with GB virus C and reduced mortality among HIVinfected patients. *N Engl J Med* **2001**; 345: 715-24.
- [2] Kozal, MJ. et al. Prevalence of HIV and GBV-C coinfection and the likelihood of genotypic resistance development. 9<sup>th</sup> Conference on Retroviruses & Opportunistic Infections **2002**; abstract 671,
- [3] Nunnari G, Nigro L, Palermo F, et al. Slower Progression of HIV-1 Infection in Persons with GB Virus C Co-Infection Correlates with an Intact T-Helper 1 Cytokine Profile. *Ann Intern Med* **2003**; 139: 26-30.
- [4] Heringlake, S. et al. GB virus C/ hepatitis G virus infection: a favorable prognostic factor in human immunodeficiency virus-infected patients? *J Infect Dis* **1998** ; v.177, p.1723-6.
- [5] Van der Bij AK, Kloosterboer N, Prins M, et al. GB Virus C Coinfection and HIV-1 Disease Progression: The Amsterdam Cohort Study. *J Infect Dis* **2005**; 191: 678–85.
- [6] Lefrère, JJ. et al. Carriage of GB Virus C/Hepatitis G Virus RNA Is Associated with a Slower Immunologic, Virologic, and Clinical Progression of Human Immunodeficiency Virus Disease in Coinfected Persons. *J Infect Dis* **1999**; v.179, n.4, p.783–9.
- [7] Yeo AET, Matsumoto A, Hisada M, et al. Effect of hepatitis G virus infection on progression of HIV infection in patients with hemophilia: Multicenter Hemophilia Cohort Study. *Ann Intern Med* **2000**; 132: 959-63.
- [8] Xiang, JI et al. Effect of coinfection with GB virus on survival among patients with HIV infection. *N Engl J Med* **2001**; v.345, n.10, p.707-14.
- [9] Williams CF, Donna Klinzman BA, Yamashita ET, et al. Persistent GB Virus C Infection and Survival in HIV-Infected Men. *N Engl J Med* **2004**; 350: 981-90.
- [10] Birk, M et al. No influence of GB virus C replication on the prognosis in a cohort of HIV-1-infected patients. *Aids* **2002**; v.16, n.18, p. 2482-85.

- [11] Brumme ZL, Chan KJ, Dong WW, et al. No association between GB virus C viremia and virological or immunological failure after starting initial antiretroviral therapy. *Aids* **2002**; 16: 1929-33.
- [12] Björkman P, Flamholz L, Nauclér A, Molnégren V, Wallmark E, Widell A. GB virus C during the natural course of HIV-1 infection: viremia at diagnosis does not predict mortality. *Aids* **2004**; 18: 877–86.
- [13] Sheng et al. Clinical Impact of GB Virus C Viremia on Patients with HIV Type 1 Infection in the Era of Highly Active Antiretroviral Therapy. *Clinical Infectious Diseases* **2007**; v. 44, n. 4, p.584-90.
- [14] Xiang, J. I. et al. Viruses within the *Flaviridae* Decrease CD4 Expression and Inhibit HIV Replication in Human CD4 Cells. *J Immunol* 2011; v.183, p. 7860-9.
- [15] Stapleton, J. T. GB virus type C/ Hepatitis G virus. *Semin Liver Dis* 2003; v.23, n.2, p.137-48.
- [16] George SL, Varmaz D, Tavis JE, Chowdhury A. The GB Virus C (GBV-C) NS3 Serine Protease Inhibits HIV-1 Replication in a CD4+ T Lymphocyte Cell Line without Decreasing HIV Receptor Expression. *Plos One* **2012**; 7: 1-9.
- [17] Toyoda H, Fukuda Y, Hayakawa T, Takamatsu J, Saito HH. Effect of GB Virus C/Hepatitis G Virus Coinfection on the Course of HIV Infection in Hemophilia Patients in Japan. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* **1998**; 17: 209-13.
- [18] Tillmann, H L, Kaiser T, Zie F. Impact of Coinfection With HIV-1 and GB Virus C in Patients Receiving a Ritonavir-Boosted HAART Regimen: A Substudy to the MaxCmin1 Trial *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* **2005**; 40: 378–80.
- [19] Björkman P, Flamholz L, Molnégren V, Marshall A, Güner N, Widell A. Enhanced and resumed GB virus C replication in HIV-1-infected individuals receiving HAART. *Aids* **2007**; 21: 1641–43.

- [20] Linnen J, Wages Jr J, Zhang-Keck ZY, et al. Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: A transfusion-transmissible agent. *Science* **1996**; 271: 505-8.
- [21] Zhang W, Chaloner K, Tillmann HL, Williams CF, Stapleton JT. Effect of early and late GB virus C viraemia on survival of HIV-infected individuals: a meta-analysis. *HIV Med* **2006**; 7: 173–80.
- [22] Giret MTM, Miraglia JL, Sucupira MCA, et al. Prevalence, Incidence Density, and Genotype Distribution of GB Virus C Infection in a Cohort of Recently HIV-1-Infected Subjects in São Paulo, Brazil. *Plos One* **2011**; 6: 1-9.
- [23] Ernst D, Greer M, R Akmatova R. Impact of GB virus C viraemia on clinical outcome in HIV-1-infected patients: a 20-year follow-up study *HIV Medicine* **2013**; 1-6.

## Anexo A

## Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFPE

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. N.º 232/2011 - CEP/CCS

Recife, 02 de junho de 2011

Registro do SISNEP FR – 426529  
CAAE – 0276.0.172.000-11  
Registro CEP/CCS/UFPE N.º 301/11  
Título: Co-infecção GB vírus C e HIV em Pacientes acompanhados no Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias do HC-UFPE em 2011.  
Pesquisador Responsável: Evônio de Barros Campelo Júnior

Senhor (a) Pesquisador (a):

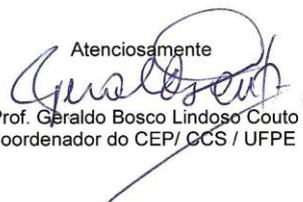
Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CEP/CCS/UFPE) registrou e analisou de acordo com a Resolução N.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, o protocolo de pesquisa em epígrafe, liberando-o para início da coleta de dados em 01 de junho de 2011.

Ressaltamos que a aprovação definitiva do projeto será dada após a entrega do relatório final, conforme as seguintes orientações:

- a) Projetos com, no máximo, 06 (seis) meses para conclusão: o pesquisador deverá enviar apenas um relatório final;
- b) Projetos com períodos maiores de 06 (seis) meses: o pesquisador deverá enviar relatórios semestrais.

Dessa forma, o ofício de aprovação somente será entregue após a análise do relatório final.

Atenciosamente

  
Prof. Geraldo Bosco Lindoso Couto  
Coordenador do CEP/CCS/UFPE

Ao  
Dr. Evônio de Barros Campelo Júnior  
Programa de Pós- Graduação em Medicina Tropical