

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica

NOVAS PERSPECTIVAS NO TRATAMENTO DA HEPATITE C – INIBIDOR
SELETIVO DE NS5A

Bruna Assaf Mateus

Trabalho de Conclusão do Curso de Farmácia-Bioquímica da Faculdade de Ciências
Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Orientadora:

Profa. Dra. Cristina Northfleet de Albuquerque

São Paulo
2018

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	Página 4
1 RESUMO	Página 5
1.1 PALAVRAS-CHAVE	Página 5
1.2 INTRODUÇÃO	Página 5
1.3 OBJETIVO	Página 5
1.4 MATERIAIS E MÉTODOS	Página 5
1.5 RESULTADOS	Página 5
1.6 CONCLUSÃO	Página 6
2. INTRODUÇÃO	Página 6
3. OBJETIVO	Página 9
4. MATERIAIS E MÉTODOS	Página 9
5. DISCUSSÃO	Página 10
5.1 Morfologia e estrutura do HCV	Página 10
5.2. Proteínas Estruturais	Página 12
5.3 Proteínas não-estruturais	Página 12
5.4 Genoma do HCV e as proteínas virais	Página 14
5.5 Replicação do HCV	Página 15
5.6 Epidemiologia	Página 18
5.7 Transmissão da doença	Página 18
5.8 Evolução da doença	Página 19
5.9 Resposta defensiva do organismo à infecção pelo HCV	Página 20
5.10 Co-infecção HCV-HIV	Página 21
5.11 Diagnóstico laboratorial da hepatite C	Página 22
5.12 Tratamento da hepatite C crônica no Brasil	Página 23
5.13 Pacientes que devem receber tratamento	Página 23
5.14 Pacientes que não podem receber tratamento com DAAs	Página 24
5.15 Exames indicativos de grau de fibrose e grau de cirrose hepática	Página 25
5.16 Recomendação do tratamento de acordo com a evidência científica	Página 26
5.16.1 Pacientes infectado com HCV genótipo 1	Página 27
5.16.2 Pacientes infectado com HCV genótipo 2	Página <u>28</u>
5.16.3 Pacientes infectado com HCV genótipo 3	Página 28
5.16.4 Pacientes infectado com HCV genótipo 4	Página 29

5.16.5 Pacientes infectado com HCV genótipo 5 e 6	Página 30
5.17 Recomendação de tratamento para pacientes em grupos especiais	Página 30
5.17.1 Pacientes com Doença Renal Crônica e transplante renal	Página 30
5.17.2 Tratamento da hepatite C crônica em pacientes coinfectados HCV-HIV	Página 31
5.18 O Daklinza	Página 31
5.19 Informações técnicas do daclatasvir	Página 32
5.20 Mecanismo de ação dos inibidores do daclatasvir	Página 32
5.21 Resultados dos estudos clínicos com daclatasvir	Página 33
5.22 Tratamento a longo prazo com daclatasvir	Página 36
5.23 Resistência e Falhas de Tratamento com DAAs	Página 36
5.24 Parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos do daclatasvir	Página 37
5.25 Prevenção da Hepatite C	Página 38
6. CONCLUSÃO	Página 39
7. BIBLIOGRAFIA	Página 40

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AUC – Area Under Curve (concentração plasmática do fármaco em função do tempo)

C_{máx} – Concentração máxima do fármaco no plasma

C_{mín} - Concentração mínima do fármaco no plasma

DAA - Antirretroviral de Ação Direta

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

DNAc - DNA circular

ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

INR (TP) – Tempo de protrombina

IRC - Insuficiência Renal Crônica

IRES – Internal Ribossomal Entry Site

HCV - Hepatitis C Virus - Sigla internacional

HIV - Vírus da Imunodeficiência Adquirida

HVR - Região Hipervariada

LIOQ – Limite Inferior de Quantificação

NCR – Non-coding region

NS3/4A – Non-Structural (protein) 3/4A

NS5A – Non-Structural (protein) 5A

ORF - Open Reading frame

PCR - Polymerase Chain Reaction

RNA - Ácido ribonucleico

RT-PCR - Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction

RVS - Resposta Viroológica Sustentada

ssRNA - Ácido Ribonucleico de fita simples

TARV - Terapia Antirretroviral

UTR – Untranslated region

1 RESUMO: MATEUS, BA. Novas perspectivas no tratamento da Hepatite C – Inibidor seletivo de NS5A. 2017. no. f. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia-Bioquímica – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, ano.

1.1 PALAVRAS-CHAVE: Hepatite C, crônica, aguda, tratamento, mecanismo de ação daclatasvir.

1.2 INTRODUÇÃO: A hepatite C é um grande problema de saúde pública. A maioria dos pacientes infectados desenvolve a forma crônica da doença, que age de maneira silenciosa, resultando em condições sérias que comprometem a vida do paciente. Além disso, em muitos casos o paciente não sabe que está infectado pelo vírus, contribuindo para a disseminação da doença entre a população. Até pouco tempo, a chance de cura para a hepatite C era pequena e o tratamento cercado de eventos adversos sérios. O daclatasvir, um inibidor seletivo de NS5A, veio para revolucionar o tratamento contra a infecção pelo vírus da hepatite C, elevando as chances de cura, com poucos eventos adversos relacionados ao tratamento.

1.3 OBJETIVO: Verificar a importância do daclatasvir no tratamento da hepatite C crônica.

1.4 MATERIAIS E MÉTODOS: Para o desenvolvimento deste trabalho foi utilizado o método de revisão bibliográfica presente na literatura. Foram levantados artigos relevantes sobre o tema nas bases de dados PubMed, Scopus e Scielo. Para o levantamento de artigos foram utilizadas palavras-chave como: C hepatitis, infection, daclatasvir, chronic, e, mechanism of action.

1.5 RESULTADOS: O levantamento bibliográfico possibilitou verificar que o daclatasvir foi uma importante descoberta para o tratamento da hepatite C, uma vez que o fármaco é capaz de ser eficaz contra os diversos tipos e subtipos virais,

associado a uma alta taxa de sucesso terapêutico e a um índice reduzido de eventos adversos relacionados ao tratamento.

1.6 CONCLUSÃO: Como um tratamento revolucionário, o daclatasvir se mostrou um poderoso arsenal contra a infecção crônica da hepatite C. Apesar deste grande avanço, o tratamento está disponível apenas para uma pequena parcela da população infectada. Além disso, os custos de tratamento com este medicamento e suas associações obrigatórias dificultam ainda mais a distribuição do tratamento, principalmente entre a população mais carente. É preciso investir em ações de saúde pública para que o tratamento com daclatasvir seja amplamente distribuído entre a população infectada e a disseminação e avanço da doença sejam contidos. Além disso, é necessário que os métodos de detecção cheguem ao paciente precocemente infectado, para que a doença seja descoberta na fase inicial e o tratamento ser iniciado o mais breve possível, evitando as complicações da doença.

2 INTRODUÇÃO

O HCV atua de maneira silenciosa e por este motivo, se distribui amplamente entre a população. De maneira geral, a Organização Mundial da Saúde estima que em 2015 havia 71 milhões de pessoas contaminadas com o vírus, com a uma taxa de 1,75 milhão de novas infecções pelo HCV, representando assim, um importante problema na saúde pública mundial (WHO, 2017).

De acordo com os dados da Organização Mundial da Saúde estima-se que a hepatite C seja responsável por aproximadamente 1,34 milhão mortes em 2015, um valor que se mostra muito elevado quando comparado às demais epidemias mundiais, como por exemplo o HIV (1,06 milhão de mortes) (WHO, 2017).

Entre as complicações que aparecem a longo prazo as principais causas de mortes associadas à infecção crônica pelo HCV se destacam a cirrose e o carcinoma hepatocelular (WHO, 2017).

O vírus da hepatite C (HCV) foi identificado por Choo e colaboradores em 1989. O HCV é o principal agente etiológico da hepatite crônica anteriormente denominada hepatite não-A não-B (Choo et al, 1989).

A transmissão do vírus ocorre principalmente por via parenteral. Após o contato e infecção, é iniciada a fase aguda da doença, que possui evolução assintomática em 85% dos casos, com resolução espontânea em aproximadamente 15% deles (Brasil, 2005).

Na fase aguda, quando o vírus se manifesta clinicamente, isto ocorre de forma diversificada, caracterizada por mal-estar, febre, urina escura, fadiga, dor nas articulações, náusea, vômitos, dor abdominal, perda de apetite, entre outros sintomas diversos, o que dificulta nesta fase o diagnóstico da doença (Brasil, 2005).

O tempo de incubação do HCV é de 15 a 150 dias, no entanto, o hospedeiro é capaz de transmitir a doença antes deste período e mantém-se enquanto houver HCV-RNA detectável (Brasil, 2005).

A cronicidade da doença caracteriza um processo agudo inflamatório ao fígado que perdura por mais de seis meses. Na fase crônica os sintomas podem levar anos para aparecer, em média de 10 a 15 anos após a infecção pelo vírus. Nestes hospedeiros, 20% a 30% evoluem para cirrose, caracterizada por nódulos e fibrose no fígado, que atrapalham a circulação sanguínea do órgão, e levam à insuficiência hepática. Dos pacientes cirróticos, 1% a 5% desenvolvem hepatocarcinoma, doença que pode aparecer em até 30 anos após a infecção inicial. (Brasil, 2005)

Como podemos observar, a evolução da doença resulta em complicações cada vez mais sérias e de difícil controle ou reversão, desta maneira, o diagnóstico antecipado pode impedir a evolução da doença através do tratamento precoce.

Independentemente do maior acesso aos serviços de saúde e tecnologia eficazes para diagnóstico da infecção, o caráter assintomático da doença e a desinformação da população em geral dificultam a luta contra a hepatite C (Brasil, 2015).

Apesar da existência de uma terapia para infecção crônica pelo HCV, os resultados obtidos com o tratamento foram insatisfatórios, com baixo índice de cura, prolongado tempo de terapia e principalmente, muitos eventos adversos que necessitam de manejo de alta complexidade, prejudicando a qualidade de vida do paciente e frustrando o profissional de saúde (Brasil, 2015).

Entretanto, o tratamento para hepatite C evoluiu muito nos últimos 10 anos, permitindo que passássemos da era baseada em regimes terapêuticos com interferon e ribavirina para a associação destes com inibidores de proteases NS3/4A (Boceprevir e Telaprevir) e chegássemos aos tratamentos com maior eficácia e menor número de eventos adversos, utilizando fármacos de elevada barreira genética. Então, passamos à era dos inibidores seletivos de NS5A (sofosbuvir, daclatasvir) (Brasil, 2015).

O trabalho a seguir irá detalhar o fármaco daclatasvir, um potente inibidor do complexo de replicação NS5A do vírus da hepatite C, que é um componente essencial do mecanismo de replicação viral. O daclatasvir inibe a replicação do RNA viral e a montagem do vírion (Brasil, 2015).

O daclatasvir deve ser utilizado em combinação com outros agentes que combatem a infecção do vírus, como o sofosbuvir, a ribavirina e o interferon. A composição do tratamento irá depender do genótipo do vírus e estadiamento cirrótico do paciente (Bristol-Myers Squibb, 2016).

A eficácia e segurança do Daklinza, nome comercial do medicamento onde o princípio ativo é o daclatasvir, para o tratamento da hepatite C crônica, foram avaliadas em combinação com alfapeginterferona e ribavirina e em combinação com sofosbuvir com ou sem ribavirina. A RVS foi estabelecida como desfecho primário para determinar a taxa de cura virológica do HCV, que foi definida como RNA e HCV abaixo do limite inferior de quantificação (LIOQ) na semana 12 após o início do tratamento (Bristol-Myers Squibb, 2016).

A eficácia e segurança do daclatasvir foram comprovadas em diversos estudos clínicos, onde a RVS atinge cerca de 90% dos pacientes, nos variados tipos e

subtipos de vírus. A maioria dos estudos clínicos com o daclatasvir revelaram eventos adversos associados ao tratamento classificados como brandos ou moderados, onde apenas 5% dos pacientes apresentaram eventos adversos sérios e 3% descontinuaram o tratamento com daclatasvir devido a eventos adversos (Bristol-Myers Squibb, 2016).

Ainda existem dados limitados para acompanhamento a longo prazo dos resultados dos estudos, uma vez que o medicamento foi testado e lançado recentemente.

3. OBJETIVO

Verificar a eficácia e segurança dos novos tratamentos contra a hepatite C, através da revisão bibliográfica dos principais estudos clínicos realizados com o daclatasvir, um inibidor viral de ações direta da proteína não-estrutural do HCV, a NS5A. O trabalho também expõe a importância do tratamento de uma doença silenciosa que culmina em comprometimento grave da saúde e atinge uma grande parcela da sociedade brasileira.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho é baseado na revisão da literatura acerca da hepatite C e seus tratamentos, com enfoque nos novos medicamentos empregados para tratar a fase crônica da doença. Para isso foram empregados artigos científicos e textos de livros teóricos que tratam do assunto, selecionados a partir de uma investigação prévia em sites de busca bibliográfica como o PubMed e Scielo e nos livros disponíveis nas bibliotecas do ICB-USP, todos referenciados neste trabalho. As palavras chaves utilizadas na investigação literária foram: C hepatitis, HCV, treatment, prevention, interferon, telaprevir, boceprevir, daclatasvir, mechanism of action, dentre outras. Os critérios de seleção foram: relevância do artigo e relação com o tema. Também foram consultados sites do Ministério da Saúde e Protocolos e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C, Relatórios da Organização Mundial da Saúde e Protocolos de vigilância epidemiológica sobre hepatites virais.

5. DISCUSSÃO

5.1 Morfologia e estrutura do HCV

O HCV é um vírus hepatotrópico, não citopático pertencente à família *flaviviridae* e ao gênero Hepacivirus. Não se conhece um vetor invertebrado e possui inabilidade de ser propagado eficientemente em cultura de células (Fauquet et al., 2005).

A estrutura do HCV é constituída por três principais setores: o envelope viral, o nucleocapsídeo e o RNA viral. Estudos de microscopia eletrônica demonstraram que o vírus apresenta forma esférica com aproximadamente 50nm de diâmetro e contém um envelope lipídico. O capsídeo viral possui estrutura icosaédrica com 30nm de diâmetro aproximadamente (Fauquet et al., 2005).

O envelope viral é constituído por glicoproteínas do tipo E1 e E2 e capsídeo viral é constituído pela proteína C. (Miyamura et al., 1996).

O material genético do HCV é um RNA de fita simples (ssRNA) de polaridade positiva com aproximadamente 9,6 kilobases (kb). O genoma possui regiões não traduzidas nas porções 3' e 5' (untranslated regions - UTR), que incluem elementos de controle necessários para a replicação e tradução (Lindenbach e Rice, 2005). As regiões UTR r flanqueiam uma fase de leitura aberta (Open reading frame -ORF) que codifica uma única poliproteína de aproximadamente 3011 resíduos de aminoácidos. Essa poliproteína é processada por proteases do vírus e do hospedeiro em subunidades proteicas estruturais (C, E1 e E2) e não estruturais (NS2, NS3, NS4b, NS5a e NS5b) (Penin et al., 2004).

A região 5' UTR e o gene core são mais conservados, enquanto os genes do envelope, E1 e E2, apresentam regiões hipervariáveis (Penin et al., 2004).

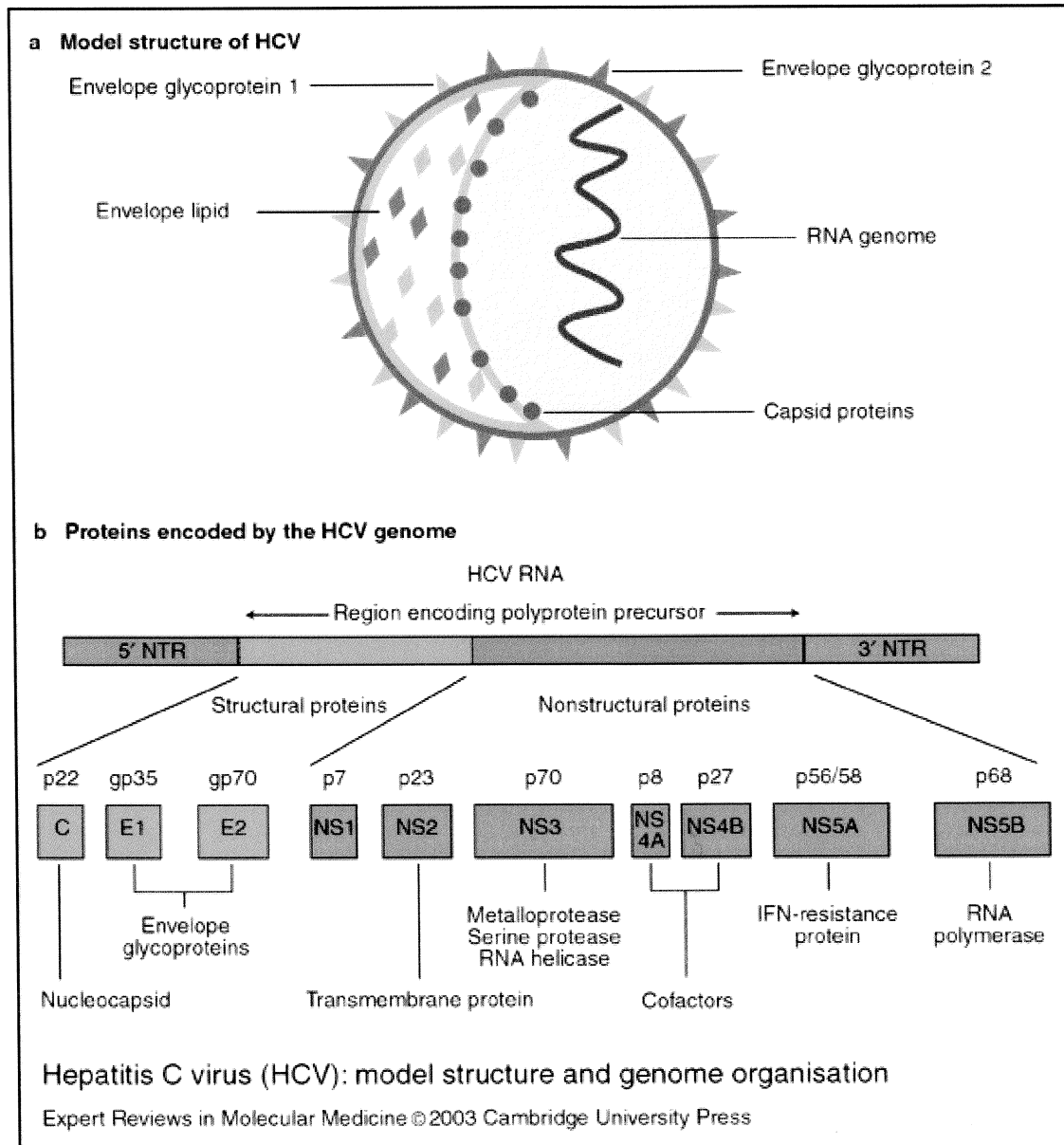


Figura 1: Organização da estrutura do HCV mostrando o envelope, o nucleocapsídeo e a localização do RNA. Fonte: Expert Reviews in Molecular Medicine: <http://www.expertreviews.org/> Accession information: Vol. 5; 19 November 2003. Acessado em: 31Jan2018.

5.2. Proteínas Estruturais

As glicoproteínas de envelope E1 e E2 são liberadas da poliproteína precursora por peptidases celulares e são caracterizadas como glicoproteínas transmembrânicas do tipo I. Existem evidências de que as glicoproteínas são essenciais para a entrada da partícula viral na célula hospedeira, pela ligação com o receptor celular CD81, encontrado nas membranas dos hepatócitos, e também pela indução da fusão da cápsula viral com a membrana celular (Penin et al., 2004).

A proteína E2 pode ser expressa em diferentes formas e acredita-se que elas estejam envolvidas na infectividade do vírus (Sakai et al., 2003).

A E2 possui na sua porção amino, uma região de 34 aminoácidos que apresenta a maior variabilidade dentro do genoma do HCV, denominada região hipervariável 1 (HVR1) (Sakai et al., 2003). Esta região parece desempenhar um importante papel na determinação do curso da evolutivo da doença. Os casos que se resolveram na fase aguda da doença apresentam menor variabilidade na região HVR1, conforme observado em diferentes partículas virais obtidas de um mesmo paciente, comparado com pacientes que evoluem para hepatite crônica. Este fenômeno ocorre, provavelmente, devido à maior pressão imunológica nos casos que se resolvem, não permitindo o aparecimento de variantes virais capazes de escapar de uma pressão imunológica eficiente, o que levaria a uma infecção crônica (Farci et al, 2000).

5.3 Proteínas não-estruturais

A proteína não-estrutural NS2 associada com NS3 (NS2/NS3 protease) é a primeira protease viral ativada no polipeptídeo e é responsável pela maturação das proteínas NS restantes (Dumoulin et al., 2003). Até o momento, algumas poucas propriedades foram atribuídas para a proteína NS2 clivada madura, visto que ela parece agir na inibição da apoptose, na modulação da expressão gênica e na fosforilação da proteína NS5A (Franck et al., 2005). A porção carboxi-terminal de NS2 possui uma tríade catalítica da enzima cisteíno-protease, necessária para a clivagem de NS2/3 (Lindenbach e Rice, 2005).

NS3 é uma proteína multifuncional, com um domínio serino-protease na porção N-terminal e um domínio RNA helicase/ NTPase na porção C-terminal (Lindenbach e Rice, 2005). Não se sabe qual o papel da helicase do HCV, mas possivelmente ela está envolvida na iniciação da síntese de RNA, atuando na dissociação das fitas nascentes de RNA de seus moldes ou no deslocamento de proteínas ou de outro fator trans-atuante do genoma de RNA (Pang et al., 2002).

Embora NS3 possua uma atividade proteolítica intrínseca, a clivagem da poliproteína é fortemente reforçada pelo co-fator NS4. Este pequeno peptídeo ancora a protease às membranas intracelulares por meio de um segmento transmembrana N-terminal presente em NS4A, estabiliza a protease contra a degradação proteolítica e ativa a protease mudando sua geometria e intercalando domínios de NS4A (Lindenbach e Rice, 2005).

NS5B é fundamental para a maquinaria de replicação do RNA viral, pois codifica a RNA polimerase dependente de RNA (RdRP). A iniciação da síntese dependente de RNA e não dependente de iniciador com um complexo multiproteico (replicase) foi demonstrada para essa proteína (Lindenbach e Rice, 2005).

NS5A é caracterizado como uma metaloproteína fosforilada ligada ao zinco que possui papel principal na replicação do genoma e na montagem e liberação do vírion. A região N-terminal (aa 1-30) é composta por uma hélice anfipática que ancora a proteína às membranas citoplasmáticas da célula hospedeira e auxilia a montagem do complexo de replicação (Brass et al., 2002; Elazar et al., 2003; Penin et al., 2004a). Acredita-se que a NS5A contém 3 domínios denominados I, II e III. O domínio I está localizado na região N-terminal e contém uma não-convencional ligação ao zinco formada por quatro resíduos de cisteína (Tellinghuisen et al., 2004). A replicação do RNA do HCV é inibido por mutações na sequência da NS5A (Elazar et al., 2003; Penin et al., 2004b) e abolidas por alterações no sítio de ligação ao zinco (Tellinghuisen et al., 2004). As funções dos demais domínios da NS5A ainda não foram completamente estabelecidas. A hiperfosforilação da NS5A parece desempenhar um papel importante no ciclo de vida do vírus pela regulação da migração da replicação à montagem, através do qual uma hiperfosforilação da

proteína mantém o complexo de replicação em um estado de montagem inativada (Appel et al., 2005).

Até o momento, sabe-se que a NS5A desempenha funções de ativação transcricional e parece estar envolvido na regulação do crescimento celular e nos caminhos da sinalização. Funções múltiplas foram designadas à NS5A baseadas nas interações com as proteínas celulares (Tellinghuisen e Rice, 2002). Até o momento, a NS5A aparentemente desempenha uma função de resistência ao interferon. A apoptose é um processo proativo de morte celular e, em alguns casos, é causada por infecção viral. A prevenção da apoptose das células hospedeiras pode ser benéfica para os vírus, permitindo períodos mais longos de replicação viral e persistência. Demonstrou-se que NS5A poderia perturbar o processo apoptótico (Gale et al., 1999).

O NS5A também é capaz de alterar a atividade da NS5B polimerase *in vitro* e interage com várias proteínas estruturais potencialmente envolvidas na modulação de múltiplos aspectos celulares (Fidell et al., 2011).

O mecanismo pelo qual o NS5A regula a replicação do HCV ainda não está totalmente elucidada e necessita de confirmações em modelos *in vivo* (Tellinghuisen and Rice, 2002).

5.4 Genoma do HCV e as proteínas virais

A região 5'UTR possui uma sequência de 341 nucleotídeos e apresenta estruturas secundárias e terciárias no RNA conhecidas como IRES (Internal Ribosomal Entry Site - Sítio Internos de entrada ribossomal), essenciais para a tradução do genoma viral. Os IRES permitem a ligação direta da subunidade ribossomal 40S, não necessitando de fatores pré- iniciação, fazendo com que o códon de iniciação fique posicionado sob o sítio P (Appel et al., 2005).

A replicação viral mediada pela RNA-polimerase-RNA-dependente é muito propensa a erro e gera altas taxas de mutações, que por sua vez é a principal fonte de diversidade viral, sendo, portanto proposto um esquema de classificação do HCV

em genótipos. Os genótipos propostos são seis (1, 2, 3, 4, 5 e 6), sendo que cada genótipo pode ser subdividido por subtipos nomeados alfabeticamente. (Stumpf e Pybus, 2002).

Dentro de um mesmo genótipo e seu subtipo podemos ainda ter variações do HCV, que são denominadas *quasispecies*. A análise filogenética do vírus da hepatite c permitiu ainda a caracterização dos 6 genótipos existentes em subdivisões por grupos a, b, c, d, e e f. Esta alta variação é possível devido à replicação imperfeita do HCV, com o surgimento de pequenas constantes mutações. A maior ou menor diversidade das *quasispecies* parece estar relacionada com a pressão imunológica, já que costuma ser pequena nas fases iniciais da doença, com aminotransferases normais, sendo de alta heterogeneidade nos casos de doença hepática mais avançada e/ou com baixa resposta terapêutica (Rosen e Gretch, 1999).

A denominação do genótipo viral também é importante para identificação da fonte de infecção viral. O genótipo do paciente é comparado com o genótipo das possíveis fontes de infecção (Schroter et al., 2003).

É necessário que se delineie o perfil da genotipagem do HCV, visto que existe uma relação bem estabelecida entre genótipo viral e a resposta ao tratamento. Nos Estados Unidos, o genótipo 1a é o mais presente em usuário de drogas intravenosas (Rosen e Gretch, 1999). Enquanto que na Itália, os genótipos prevalentes neste mesmo grupo de risco são os 1a e 3a (Silini et al., 1995b).

No Brasil, observou-se predominância dos genótipos 1 e 3 do HCV em todos os grupos populacionais infectados. Há uma pequena porcentagem dos genótipos tipo 2, 3 e 4 (Foccacia et al., 1998).

5.5 Replicação do HCV

A grande dificuldade de estudo dos mecanismos de replicação do HCV reside no fato de o HCV ser um patógeno humano, não havendo animal de experimentação ou meios de cultura que se adaptem à pesquisa, exceto o chimpanzé, de custos proibitivos. Nas poucas investigações experimentais recentes, estudos

demonstraram que os chimpanzés se reinfectam com vírus homólogos e heterólogos, mesmo com a presença de anticorpos neutralizantes (Joo e Habn, 2000).

Por este motivo, a replicação viral tem sido estudada baseando-se na forma de replicação de outros flavivírus (Tomassini et al., 2003) ou no estudo com linhagens de células hepáticas humanas (Rosenberg, 2001).

O RNA viral possui cerca de 9400 nucleotídeos com uma única fase de leitura aberta (ORF “open reading frame”), que inclui quase todos os genomas e codifica uma única poliproteína que consiste em cerca de 3000 aminoácidos, os quais são submetidos a uma quebra proteica com a ajuda de receptores e proteases virais codificadas, dando origem às proteínas do vírus. Isso resulta na produção de mais de 10 diferentes tipos de proteínas virais (Rosenberg, 2001).

Nas extremidades 5'e 3' do genoma viral do genoma do HCV ocorre a presença de regiões não traduzidas (UTR, “untranslated region”) ou não codificantes de proteína (NCR, “non-coding region”) (Rosenberg, 2001).

A região 5'UTR é uma região bem conservada e possui um papel fundamental na replicação viral. Esta região contém um sítio de entrada interno para o ribossoma (IRES) responsável pelo estabelecimento da tradução do RNA viral de forma independente do “CAP 5”, fundamental para a tradução dos RNAs mensageiros celulares. A eficiência do IRES varia entre os diferentes genótipos virais (Buratti et al., 1997; Kamoshita et al., 1997).

Em seguida encontra-se a fase aberta de leitura, responsável pela codificação da poliproteína que, após a clivagem pelas proteases celulares e virais, dá origem às proteínas virais. As proteínas virais são: quatro estruturais, localizadas no quarto amino terminal e seis não estruturais, localizadas na parte restante do genoma. As proteínas estruturais são: core c, glicoproteínas de envelope (E1 e E2) e uma pequena proteína P7. As seis proteínas não estruturais são: NS2, NS3, NS4A, NS5B e NS5B que estão envolvidas nos processos de clivagem da poliproteína e na replicação viral (Sakai et al., 2003).

A proteína do core ou nucleocapsídeo é a primeira da porção amino terminal da poliproteína. Ela é clivada da poliproteína recém formada por proteases celulares (Barba et al., 1997).

As glicoproteínas de envelope E1 e E2 são liberadas da poliproteína precursora por peptidases celulares e são caracterizadas como glicoproteínas transmembranares do tipo I (Deleersnyder et al., 1997). Existem evidências de que as glicoproteínas são essenciais para a entrada da partícula viral na célula hospedeira, pela ligação com o receptor celular CD81, encontrado nas membranas dos hepatócitos, e também pela indução da fusão da cápsula viral com a membrana celular (Pileri et al., 1998; Bartosh et al., 2003). A proteína E2 pode ser expressa em diferentes formas e acredita-se que elas estejam envolvidas na infectividade do vírus (Sakai et al., 2003).

Acredita-se, que a membrana do HCV é originada a partir da membrana do retículo endoplasmático do hospedeiro e que a proteína E1 funcione como proteína de fusão do envelope com a membrana do hospedeiro durante a infecção. De modo semelhante, a glicoproteína E2 é a responsável pela ligação a receptores celulares do hospedeiro (Tellinghuisen e Rice, 2002).

A replicação do vírus dentro da célula ocorre através da ligação de suas proteínas não estruturais à membrana do retículo endoplasmático. Esse mecanismo forma um complexo de replicação que otimiza o processo de produção de novas partículas virais, protegendo-as da degradação intracelular. De acordo com Moradpour e colaboradores (2006), a formação desse complexo de replicação é responsável pela alteração na conformação das membranas do retículo endoplasmático da célula infectada, a qual é denominada “teia membranosa”.

A RNA-polimerase-RNA-dependente do HCV mostra-se suficiente para iniciação da transcrição do RNA viral, mesmo sem a formação do complexo de replicação (Demarini et al., 2003), no entanto, Moradpour e colaboradores (2006) mostraram que a associação da RNA polimerase viral às membranas é essencial para a replicação do ácido nucléico do vírus. E, finalmente, a liberação das partículas virais

recém-formadas ocorre por exocitose, estando os vírions dentro de vesículas produzidas pelo retículo endoplasmático (Rosenberg, 2001).

5.6 Epidemiologia

Estima-se que mais de 170 milhões de pessoas em todo o mundo estão infectadas pelo HCV, sendo a prevalência viral bem variável entre as várias partes do mundo. A prevalência mundial do HCV é de 0,2 a 2% em doadores de sangue e de até 80% em usuários de drogas (WHO, 2017).

Um estudo realizado por Paltanin e Reiche (2002) em bancos de sangue brasileiros, mostrou uma prevalência de positividade para o HCV de 0,9% entre os doadores.

Os estudos de epidemiologia molecular do vírus são importantes para que sejam identificados os fatores que possam influenciar na transmissão e progressão da doença, bem como, para que seja esclarecido sobre a origem de diversos genótipos do vírus no mundo. No Brasil, foram confirmados 69.952 casos entre 1999 e 2010, de acordo com o Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais, do Ministério da Saúde. Desse total, 98,3% são crônicos. A hepatite C foi a causa básica de 14.873 mortes no país de 2000 a 2010, superando os óbitos por hepatite B (4.978), A (608), D (264) e E (48). Quando levadas em conta as causas associadas, chega-se ao número de 27.231 mortes por hepatite C, 8.641 por B, 819 por A, 377 por D e 81 por E (Brasil, 2011).

O Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais de 2011 relata que a maior proporção de casos de hepatite C confirmados entre 1999 e 2010 encontra-se na faixa etária de 40 a 59 anos, somando 54,4% do total. As taxas de detecção mais elevadas estão na faixa etária de 50 a 59 anos, seguida do grupo de 40 a 49 anos de idade.

5.7 Transmissão da doença

O HCV pode ser transmitido em qualquer situação em que sangue infectado é transferido entre indivíduos, via parenteral e vertical. A transmissão está

intimamente associada às transfusões sanguíneas quando ainda não se fazia verificação de anti-HCV nos bancos de sangue (Kim, 2002).

São considerados grupos de risco aumentado para infecção pelo HCV indivíduos que receberam transfusão de sangue ou hemoderivados antes de 1993 e usuários de drogas endovenosas (injetáveis), onde há compartilhamento de agulhas. Em menor escala pessoas que sofreram acidentes com objetos pérfuro cortantes e grupos de pessoas com *piercings* e tatuagens. (Kim, 2002).

A transmissão vertical é possível durante o momento do parto, pois há riscos de contato sanguíneo entre a mãe infectada e a criança, mas esta taxa de transmissão é relativamente baixa e está associada a altos níveis virais maternos (Batallan et al., 2003).

A transmissão do HCV pela via sexual não é alta e ainda não está bem esclarecida, havendo controvérsias quanto a esse aspecto em diversos estudos. Uma pesquisa mostrou uma baixa prevalência de mulheres infectadas pelos maridos e ainda levanta-se a dúvida se esta infecção teria ocorrido realmente pela transmissão sexual ou por exposição aos mesmos fatores de risco (Gross, 2001).

5.8 Evolução da doença

A partir da infecção, o HCV pode evoluir para três tipos de doenças: hepatite aguda, com resolução da infecção e recuperação em 15% dos casos; infecção crônica persistente, com 70% de possibilidade de progressão para doença em uma fase posterior da vida e progressão rápida para cirrose em 15% dos pacientes. (Kobayashi et al., 2004)

A presença do vírus no sangue pode ser detectada dentro de 1 a 3 semanas após a contaminação com o HCV, persiste por 4 a 6 meses nos indivíduos com infecção aguda e mais de 10 anos naqueles com infecção persistente. Na forma aguda, a infecção pelo HCV apresenta uma resposta inflamatória pouco intensa, e, em geral, os sintomas são brandos e indistinguíveis daqueles causados por outros patógenos, como náusea, mal estar, fadiga e anorexia. Eventualmente o paciente pode

apresentar icterícia. Em mais de 80% dos casos a doença inicial é assintomática. Frequentemente a doença crônica progride para hepatite crônica ativa num período de 10 a 15 anos. 20% dos pacientes com hepatite C crônica desenvolvem cirrose e aproximadamente 20% dos pacientes com cirrose evoluem para insuficiência renal após 20 anos de doença aproximadamente. O HCV promove desenvolvimento de carcinoma hepatocelular em média após 30 anos de doença em até 5% dos pacientes cronicamente infectados (Kobayashi et al., 2004).

Os sintomas clínicos da fase aguda da hepatite causada pelo HCV são indistinguíveis daquela causada pelos demais vírus da hepatite. O paciente pode apresentar icterícia, entretanto a maioria dos sintomas são inespecíficos. Quando há desconfiância de infecção por hepatite, é necessário a realização de diferentes testes diagnósticos para que se determine o agente etiológico causador da doença (Kohara, 2000).

A viremia pode ser detectada por PCR nos primeiros estágios da hepatite aguda, aparecendo, quase que ao mesmo tempo os indicadores de função hepática alterada, como níveis anormais de transaminases. Em oposição, a soro conversão pode demorar muitas semanas ou até meses para ocorrer (Pawlottsky et al., 1999).

A existência de *quasispecies* e a grande capacidade mutagênica do vírus propiciam o constante escape à intensa resposta imunológica desenvolvida pelo hospedeiro. Assim, a maioria dos indivíduos infectados evoluem para a cronicidade. (Stauss, 2001).

O comportamento do vírus em crianças é descrito como bem menos grave que o comportamento viral observados em adultos, tendendo à cura, sendo crianças assintomáticas e tendo exames clínicos normais (Bost-Bru, 1999).

5.9 Resposta defensiva do organismo à infecção pelo HCV

A infecção pelo HCV ativa tanto a resposta imune humoral quanto a celular. A reatividade de anticorpos e algumas proteínas do HCV são detectadas na maioria dos indivíduos infectados, porém a resposta é variável. Uma elevada resposta de

produção de anticorpos não necessariamente indica resposta protetora. Em indivíduos que tiveram *clearance* viral, foi observado uma menor resposta de anticorpos quando comparados a indivíduos virêmicos (Sallie, 2004).

De acordo com publicações recentes a qualidade da resposta imunológica célula-mediada parece ser crucial para a eliminação ou persistência do HCV. Diferentes pesquisas têm evidenciado que as lesões hepáticas se relacionam a mecanismos imunomediados (Sallie, 2004).

Nos indivíduos infectados com o HCV encontra-se de modo geral uma baixa resposta humoral e uma elevada resposta imune celular contra o vírus causador da doença. As respostas proliferativas são mais frequentemente associadas a indivíduos que tinham tido *clearance* da doença, sugerindo que a resposta imune celular é importante no controle da replicação do vírus in vivo (Sallie, 2004 e Kohara, 2000).

5.10 Co-infecção HCV-HIV

Frequentemente relata-se associação de HCV ao vírus da imunodeficiência humana (HIV), pois os dois vírus apresentam vias de transmissão semelhantes. Um estudo realizado no Brasil mostrou que em um grupo de pacientes com HIV, em média 17,7% são co-infectados pelo HCV (Mendes-Correa et al., 2001), sendo observado que a carga viral do HCV é maior quando há co-infecção (Matthews-Greer et al., 2001).

Estima-se que nos Estados Unidos e Europa, aproximadamente 30% dos indivíduos com HIV estejam co-infectados com o HCV. A frequência dos genótipos do HCV encontrada nos pacientes co-infectados pelo HIV foi semelhante àquela de vários estudos da Europa e Brasil com uma alta frequência dos genótipos 1 e 3 (Brasil, 2011).

Nos co-infectados, a progressão da doença pelo HCV é usualmente mais agressiva e apresenta alto nível de viremia, como também, há um risco maior de associação do HCV com a cirrose hepática e/ou hepatocarcinoma. A prevalência de cirrose é

três vezes maior entre pacientes com co-infecção HIV/HCV do que entre pacientes apenas com o HCV (Brasil, 2011).

Apesar de ambos os vírus serem transmitidos por sangue contaminado, o HCV apresenta 10 vezes mais risco de ser transmitido em acidente de punção do que o HIV e é adquirido mais facilmente por usuários de drogas injetáveis do que o HIV. Estima-se que 0,3% dos indivíduos expostos a agulhas contaminadas com sangue HIV positivo serão infectados, comparados com 2% a 8% dos expostos ao HCV (Almeida et al., 2006).

5.11 Diagnóstico laboratorial da hepatite C

O HCV circula no sangue em baixa concentração. A detecção de anticorpos contra antígenos específicos do HCV é utilizada frequentemente para identificar a infecção, presente ou passada. Para isso, são utilizados testes de rastreamento, que apresentam alta sensibilidade, e testes suplementares, também denominados confirmatórios, com maior especificidade (Brandão et al., 2001).

Os testes comercializados para detecção do anti-HCV são os ELISA, que apresentam vantagens como rapidez no processamento, facilidade de automação, alta confiabilidade e custo relativamente baixo (Reis, 1998).

A baixa especificidade dos ELISA determina a utilização de testes suplementares para confirmação diagnóstica da infecção pelo HCV em indivíduos com resultados positivos (Brandão et al., 2001).

Nos testes suplementares, a especificidade indica a proporção de indivíduos com resultado negativo quando a infecção está ausente (padrão ouro negativo) (Brandão et al., 2001).

Contudo, um resultado positivo mesmo em um teste suplementar, nem sempre é indicativo de infecção, visto que os pacientes que se recuperam da infecção podem permanecer anti-HCV positivos durante anos. Um dos testes por *immunoblot* mais utilizados é comercializado com o nome de RIBA (Lok et al., 1997).

Além disso, são empregados testes qualitativos para informar a presença — ou não — do RNA viral (resultado positivo ou negativo). Um teste sensível para a identificação do RNA do HCV é a reação em cadeia de polimerase com a enzima transcriptase reversa (RT-PCR), que catalisa a síntese do DNA complementar (DNAc) a partir da região 5'RNC do RNA viral. A seguir, a PCR é utilizada para amplificar o DNAc, produzindo quantidades suficientes para serem detectadas em gel de agarose (de Medina et al., 1995).

5.12 Tratamento da hepatite C crônica no Brasil

Até 2013 os medicamentos disponíveis para o tratamento da hepatite C crônica no sistema público de saúde eram o interferon alfa ou interferon peguilado e ribavirina. A partir de 2013 foram incluídos inibidores de protease de primeira geração, boceprevir e telaprevir, no tratamento da hepatite C crônica com genótipo 1 (Brasil, 2015).

No entanto esta terapia combinada mostrou ser significativamente tóxica e pouco eficiente em muitos pacientes do HCV (Liang et al., 2000; Zeuzem et al. 2000). Por esta razão alternativas terapêuticas para o tratamento da HCV eram urgentemente necessárias (Brasil, 2015).

Segundo as recomendações do Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite Viral C e Coinfecções (2015), o tratamento do paciente infectado pelo HCV deve seguir alguns critérios de inclusão ou exclusão, como:

5.13 Pacientes que devem receber tratamento

Infectados não tratados anteriormente com os medicamentos daclatasvir, simeprevir ou sofosbuvir, e que apresentem resultados de exame indicando fibrose hepática avançada (Brasil, 2015).

Infectados com uma biópsia com resultado F2 presente há mais de três anos.

Coinfectados com HIV, com qualquer grau de fibrose.

Infectados com manifestações extra-hepáticas com acometimento neurológico motor incapacitante, porfiria cutânea, líquen plano grave com envolvimento de mucosa.

Infectados com crioglobulinemia com manifestação em órgão-alvo (olhos, pulmão, sistema nervoso periférico e central), glomerulonefrite, vasculites e poliarterite nodosa.

Infectados com sinais clínicos ou evidências ecográficas sugestivas de cirrose hepática (varizes de esôfago, ascite, alterações da morfologia hepática compatíveis com cirrose).

Infectados com insuficiência hepática e ausência de carcinoma hepatocelular, independentemente da necessidade de transplante hepático.

Infectados com insuficiência renal crônica.

Infectados com púrpura trombocitopênica idiopática.

Infectados após um transplante de fígado ou outros órgãos sólidos.

Infectados com linfoma, gamopatia monoclonal, mieloma múltiplo e outras doenças hematológicas malignas.

Infectados com doenças autoimunes.

5.14 Pacientes que não podem receber tratamento com DAAs

Recomenda-se evitar o tratamento DAAs em pacientes infectados com o HCV, como (Brasil, 2015):

Pacientes com arritmia cardíaca. Os dados de segurança ainda são insuficientes neste grupo de pacientes.

O tratamento é contra-indicado em mulheres que desejam engravidar ou quando o parceiro homem estiver em tratamento, devido aos efeitos sobre o feto que podem provocar a ribavirina e o interferon. Não existem estudos sobre o que pode acontecer com o sofosbuvir, simeprevir ou daclatasvir caso haja exposição fetal. É necessário cuidados extremos para não engravidar. Inclusive evitar engravidar até 24 semanas após o final do tratamento (Bristol-Myers Squibb, 2016).

5.15 Exames indicativos de grau de fibrose e grau de cirrose hepática

Os exames para definir o grau de acometimento hepático são: biópsia hepática ou métodos não invasivos, como a elastografia hepática, APRI ou FIB4. (Brasil, 2015)

Aos pacientes que são elegíveis à biópsia hepática, uma extensão determinada do fígado é retirado com uma agulha e o tecido recolhido será analisado e classificado de acordo com o Protocolo de escolha. No Brasil, o protocolo de classificação mais utilizado é o METAVIR, que mede a necroinflamação numa escala de 0 até 3 e a fibrose numa escala de 0 até 4, totalizando até 7 pontos. (Brasil, 2015)

Também chamada de ARFI ou ultrassom transitório, o exame de elastografia é semelhante a um exame de ultrassom que permite classificar os graus de fibrose hepática. O treinamento adequado e o nível de obesidade do paciente podem influenciar os resultados de análise. (Brasil, 2015)

Os índices APRI e FIB4 são métodos realizados por meio de cálculos matemáticos simples, utilizando índices apresentados em exames laboratoriais. Podem ser utilizados tanto para identificar a fibrose avançada e a cirrose, quanto para deferir o tratamento da infecção. (Brasil, 2015)

Segundo Durand e Valla (2005) A classificação de Child-Pugh, é usada para avaliar o prognóstico da doença hepática crônica, principalmente da cirrose. Child e Turcotte analisaram as variáveis de risco em pacientes com doença renal crônica que apresentaram significância no prognóstico da doença: desnutrição, encefalopatia, ascite, hipoalbumemia e hiperbilirrubinemia. Conforme a gravidade e a intensidade da doença, é atribuído ao paciente pontos classificatórios que ajudam a

determinar se a doença encontra-se em estágio leve (A), moderada (B) ou avançada (C).

Apesar de ser um fator preditivo confiável, que antecipa a probabilidade de complicações importantes da cirrose, existe a necessidade de biópsia para avaliar de forma precisa o estágio da doença.

Parâmetro	1	2	3
Encefalopatia	Ausente	Estágio II ou II	Estágio III ou IV
Ascite	Ausente	Leve (controlada com diuréticos)	Moderada (apesar do tratamento com diuréticos)
Bilirrubina (mg/dl)	<2	2-3	>3
Albumina (g/l)	>3,5	2,8-3,5	<2,8
INR (TP)	<1,7	1,7-2,3	>2,3

Classe A: 5-6 pontos Mortalidade: 10%; Classe B: 7-9 pontos Mortalidade: 31%

Classe C: 10-15 pontos Mortalidade: 76%. Fonte: Durand e Valla, 2005.

5.16 Recomendação do tratamento de acordo com a evidência científica

De modo a determinar qual linha de tratamento será utilizada para os pacientes infectados com o HCV, a Sociedade Brasileira de Hepatologia se apoiou na força da evidência científica dos estudos clínicos que avaliaram os diversos tratamentos para hepatite C. Existem 5 níveis de recomendação para determinação da linhagem terapêutica adequada (Brasil, 2015):

A – Recomendação baseada em estudos experimentais ou observacionais de consistência; havendo pouca probabilidade de ser modificada por novas evidências

B – Recomendação baseada em estudos experimentais ou observacionais de menor consistência; passível de ser modificada diante de novas evidências

C – Recomendação baseada em relatos de casos e/ou estudos não controlados;

D – Recomendação apoiada em opinião desprovida de avaliação crítica, baseada em consensos, estudos fisiológicos ou modelos animais.

4.16 Recomendação de tratamento segundo o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para hepatite C

Nos últimos dois anos, foram disponibilizados pelo SUS 57 mil tratamentos para hepatite C. Em um ano de nova gestão, foram entregues 42.366 tratamentos para a doença. (Brasil, 2017).

Segundo o PCDT de 2015, são recomendados os seguintes esquemas terapêuticos de acordo com a condição apresentada pelo paciente:

5.16.1 Pacientes infectados com HCV genótipo 1

Sofosbuvir associado a simeprevir ou a daclatasvir e o esquema veruprevir com ritonavir coformulado com ombitasvir + dasabuvir (esquema 3D) são recomendados como a primeira linha de tratamento para esses pacientes (Recomendação A).

Pacientes não cirróticos podem ser tratados por 12 semanas com sofosbuvir + simeprevir ou sofosbuvir + daclatasvir, ambos sem ribavirina, independente do subtipo do genótipo 1. O esquema 3D, por 12 semanas, também pode ser uma opção nestes casos, sendo usado sem ribavirina para genótipo 1b e com ribavirina para genótipo 1a (Recomendação A).

Pacientes cirróticos compensados (Child A), independente do subtipo do genótipo 1, podem ser tratados com sofosbuvir + simeprevir, por 12 semanas (com ribavirina opcional) ou sofosbuvir + daclatasvir + ribavirina, por 12 semanas. Pacientes com cirrose, quando tratados com sofosbuvir + daclatasvir, devem ter seu tratamento

prolongado para 24 semanas no caso de serem intolerantes à ribavirina. O esquema 3D, por 12 semanas pode ser usado sem ribavirina no genótipo 1b e com ribavirina no 1a (Recomendação A).

Pacientes previamente tratados com inibidores de protease de primeira geração (boceprevir e telaprevir) ou com cirrose avançada (Child B ou C) devem ser tratados preferencialmente com associação sofosbuvir + daclatasvir por 24 semanas, com ribavirina, se for tolerada (Recomendação B).

5.16.2 Pacientes infectado com HCV genótipo 2_

Para pacientes com genótipo 2 virgens de tratamento, com ou sem cirrose, o tratamento recomendado é a associação de sofosbuvir com ribavirina durante 12 semanas (Recomendação A).

Para pacientes intolerantes à ribavirina a associação sofosbuvir + daclatasvir pode ser indicada, por 12 semanas (Recomendação B).

Em pacientes cirróticos experimentados, pode-se considerar a extensão do tratamento (SOF+RBV) para 16 semanas ou a utilização de sofosbuvir + daclatasvir + ribavirina, por 12 a 24 semanas (Recomendação B).

5.16.3 Pacientes infectados com HCV genótipo 3_

Para pacientes não cirróticos, virgens de tratamento ou experimentados, o tratamento recomendado é a associação de Sofosbuvir com Daclatasvir, durante 12 semanas (Recomendação A).

Pacientes cirróticos, virgens de tratamento ou previamente experimentados, devem ser tratados com esquema com sofosbuvir + daclatasvir, com ou sem ribavirina, durante 24 semanas (Recomendação A).

Na utilização de sofosbuvir + daclatasvir, por 12 semanas, é obrigatória a utilização de ribavirina (Recomendação B).

Sofosbuvir + peginterferon + ribavirina por 12 semanas é uma alternativa terapêutica para pacientes tolerantes a interferon (Recomendação B).

5.16.4 Pacientes infectados com HCV genótipo 4

O tratamento dos pacientes com HCV genótipo 4 pode ser realizado com a associação de sofosbuvir + PEG-interferon + ribavirina e ou, eventualmente, sofosbuvir + daclatasvir, por 12 semanas (Recomendação A).

Para pacientes intolerantes ao interferon, o tratamento pode ser realizado com os esquemas (Recomendação B):

- a) Sofosbuvir + simeprevir por 12 semanas;
- b) Sofosbuvir + daclatasvir por 12 semanas;

OBS: Em cirróticos recomenda-se a associação de ribavirina.

5.16.5 Pacientes infectados com HCV genótipo 5 e 6

O tratamento dos pacientes com genótipos 5 e 6 deve ser realizado com a associação de Sofosbuvir, PEG-interferon e ribavirina, por 12 semanas (Recomendação C).

Pacientes intolerantes a PEG-interferon podem ser tratados com sofosbuvir e daclatasvir, por 12 semanas. Nos pacientes com cirrose recomenda-se associar ribavirina (Recomendação C).

Mesmo com os novos medicamentos, a utilização da ribavirina poderá ser benéfica, particularmente nos pacientes com prognóstico de má resposta ao tratamento.

5.17 Recomendação de tratamento para pacientes em grupos especiais

5.17.1 Pacientes com Doença Renal Crônica e transplante renal

Em portadores de Insuficiência Renal Crônica (IRC) em tratamento conservador e com clearance de creatinina >30ml/min, o esquema recomendado é a associação de sofosbuvir + simeprevir ou sofosbuvir + daclatasvir, não sendo necessário ajuste de doses.

O uso de ribavirina associado aos esquemas em pacientes cirróticos deve ser feito com cautela (Recomendação C).

Em pacientes com genótipo 1, sob regime de hemodiálise, o esquema com maior segurança de uso, pelos estudos existentes até o momento, é o esquema 3D - associação veruprevir-ritonavir, dasabuvir e ombitasvir (Recomendação B).

Por fim, a associação de sofosbuvir + simeprevir (em genótipo 1) ou sofosbuvir + daclatasvir (em todos os genótipos) deve ser avaliada com cautela em pacientes com doença renal terminal, uma vez que esquemas seguros de diferentes doses de sofosbuvir ainda não estão estabelecidos para essa população (Recomendação D).

Em candidatos a transplante renal, o tratamento pode ser feito após o transplante, com os mesmos esquemas adotados para transplantados de fígado, desde que a função renal não indique *clearance* inferior a 30ml/min. Interações medicamentosas com os imunossupressores devem ser analisadas com cautela (Recomendação D).

5.17.2 Tratamento da hepatite C crônica em pacientes coinfectedados HCV-HIV

O rastreamento da infecção pelo HCV é obrigatório em todos os pacientes portadores do HIV (Recomendação A).

O tratamento da hepatite C crônica em coinfectedados com o HIV deve ser realizado seguindo as mesmas orientações aplicáveis aos monoinfectados pelo HCV (Recomendação A).

É condição recomendável o melhor controle virológico e imunológico da infecção pelo HIV antes do tratamento da infecção pelo HCV (Recomendação A).

É condição obrigatória a adequação da terapia antirretroviral, conforme as informações atualizadas de interações medicamentosas com os DAAs, visando a segurança e eficácia do tratamento das duas infecções (Recomendação A).

Trocas da TARV devem ser realizadas de maneira segura e, se necessário, com o aconselhamento do infectologista de referência em genotipagem do HIV (Recomendação A).

5.18 O Daklinza

O daclatasvir é aprovado comercialmente no Brasil com o nome de Daklinza, sendo o laboratório detentor do registro do produto no Brasil o Bristol-Myers Squibb. O Daklinza está disponível em duas apresentações, 30mg ou 60mg em uma embalagem com 28 comprimidos.

O Daklinza foi aprovado no Brasil em 2015 para o tratamento da infecção crônica pelo vírus da Hepatite C em pacientes adultos com infecção por HCV dos genótipos tipo 1, 2, 3 ou 4 virgens de tratamento ou experimentados, incluído pacientes com cirrose compensada ou descompensada, recorrência de HCV pós-transplante hepático e pacientes coinfectados com HCV/HIV. O tratamento deve ser em combinação com outros antivirais de modo a evitar resistências do HCV. O tratamento e sua duração dependem do genótipo do vírus e da população de paciente. (Bristol-Myers Squibb, 2016)

5.19 Informações técnicas do daclatasvir

Segundo a base de dados do Pubchem (2018):

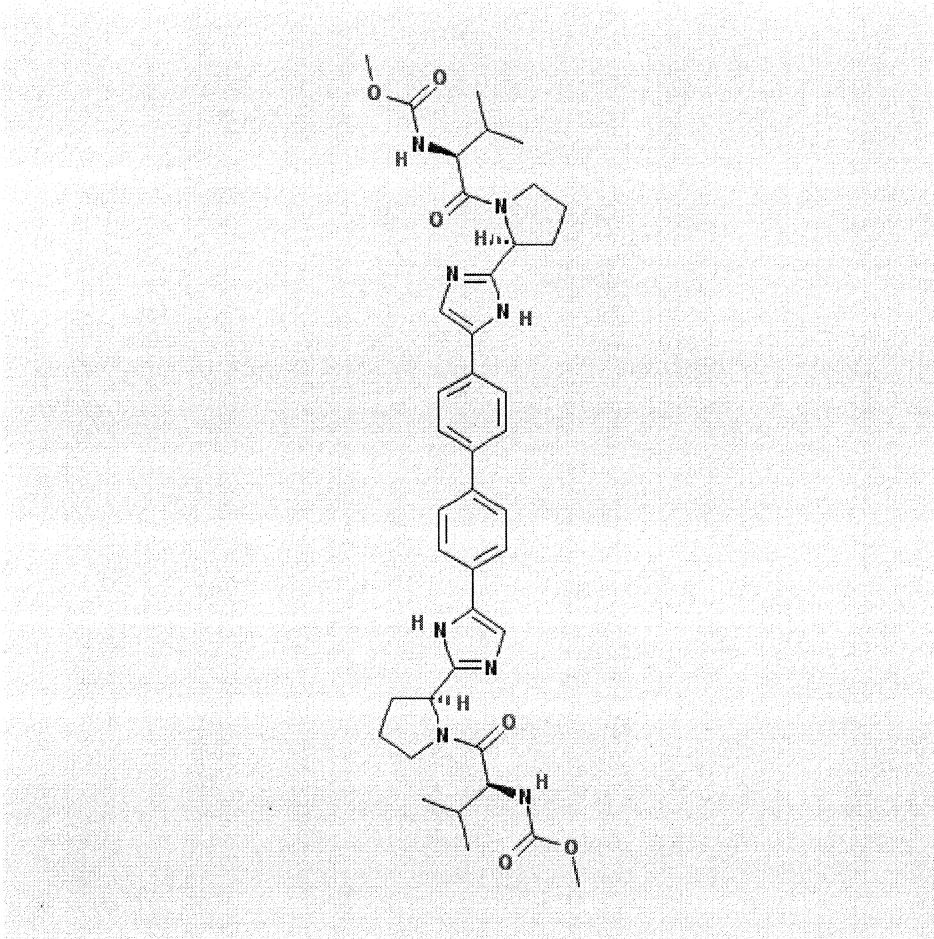
Princípio ativo: cloridrato de daclatasvir

Fórmula molecular: C₄₀H₅₀N₈O₆

Massa molar: 738,89g/mol

Solubilidade em água: Alta (> 700mg/mL)

Estrutura molecular:



Estrutura molecular daclatasvir. Fonte: PubChem. Acesso: 29 de janeiro de 2018.

5.20 Mecanismo de ação dos inibidores do daclatasvir

O HCV replica o genoma do seu RNA em associação com as membranas derivadas do retículo endoplasmático. Uma vez que a replicação viral do RNA é um passo indispensável no ciclo viral do HCV, a disrupção farmacológica da replicação do RNA viral tem sido associada a uma estratégia antiviral. Individualmente cada proteína não estrutural desempenha um papel chave na montagem e na manutenção do complexo de replicação e por este motivo poderia ser um potencial alvo antiviral. (Fridell et al., 2011 e Gao et al., 2010)

Em relação ao mecanismo de ação, uma análise das mutações de resistência dos inibidores do NS5A identificou os pontos capazes de precipitar o NS5A das extrações celulares, e o tratamento dos primeiros 76 aminoácidos do NS5A são

importantes e determinantes para susceptibilidade dos inibidores de NS5A à replicação do HCV. (Fridell et al., 2011 e Gao et al., 2010).

Estudos com a NS5A revelam que esta proteína forma um auto-dímero através do contato próximo do N-terminal, possibilitando o daclatasvir inibir a replicação do HCV pela interferência da auto-dimerização das proteínas NS5A (Tellinghuisen et al., 2004).

Foi observado que o daclatasvir foi capaz de precipitar o NS5A das células de extração, e o tratamento do HCV com este composto resultou num decréscimo NS5A hiperfosforilado (Gao et al., 2010).

Estudos morfológicos e bioquímicos realizados por Lee et al. (2011) demonstraram que o daclatasvir altera a localização subcelular da proteína da NS5A com mínimos efeitos às demais proteínas não estruturais.

Em outros estudos realizados pelo laboratório Pfizer, foi demonstrado que a NS5A era redistribuída do retículo endoplasmático às gotículas lipídicas por intermédio dos inibidores de NS5A. Estes dados sugerem fortemente que os inibidores de NS5A, como o daclatasvir, suprimem o genoma viral de replicação através da alteração da localização subcelular da proteína NS5A especificamente, prevenindo assim, a montagem do NS5A dentro do complexo de replicação funcional (Targett-Adams et al., 2011)

5.21 Resultados dos estudos clínicos com daclatasvir

Alguns estudos foram realizados com o daclatasvir para verificar a sua eficácia e segurança comparados com os regimes disponíveis para o tratamento do HCV ou comparados com placebo quando não houvesse terapia existente.

O daclatasvir demonstrou uma capacidade de proporcionar uma alta RVS ao HCV em mais de 80% dos pacientes tratados, independentemente do genótipo viral e existência de doenças usualmente concomitantes como cirrose e HIV (Bristol-Myers Squibb, 2016).

A eficácia e segurança de daclatasvir para o tratamento da infecção crônica pelo HCV foram avaliadas em combinação com alfapecinterferona e ribavirina e em combinação com sofosbuvir com ou sem ribavirina.

Os valores de RNA de HCV foram medidos durante os estudos clínicos, sendo que foram considerados nos ensaios uma quantificação de limite inferior (LLOQ) viral de 25UI por mL. A RVS foi estabelecida como desfecho primário para determinar a taxa de cura virológica do HCV, que foi definida como RNA de HCV abaixo do LLOQ na Semana 12 pós-tratamento (Bristol-Myers Squibb, 2016).

Estudo AI444052

Este estudo conseguiu demonstrar a não inferioridade do daclatasvir em relação ao telaprevir, ambos combinados com alfapecinterferona e ribavirina, no tratamento dos pacientes infectados com HCV genótipo 1b (Bristol-Myers Squibb, 2016).

Estudo AI444042

O estudo a eficácia de daclatasvir em comparação a placebo, combinados com alfapecinterferona e ribavirina, no tratamento de pacientes infectados com HCV genótipo 4. Os resultados do estudo demonstraram que a RVS ocorreu em maior porcentagem dos pacientes que estavam no braço do daclatasvir. Além disso foram observadas menores porcentagem de falha virológica durante o tratamento e casos de recidiva em pacientes que fizeram uso de daclatasvir.

Estudo AI444040

Estudo avaliou o uso de daclatasvir em combinação do sofosbuvir, com ou sem ribavirina, em pacientes sem cirrose, com infecção crônica por HCV genótipo 1, 2 ou 3 (Sulkowski et al., 2014).

Dentre os pacientes com HCV genótipo 1 que receberam esta linha tratamento, aqueles que eram virgens de tratamento apresentaram RVS em 99% dos casos e

os que tiveram falha prévia com tratamento com telaprevir ou boceprevir apresentaram RVS em 100% dos casos. O escape virológico e recidiva não foram verificados em nenhum paciente participante (Sulkowski et al., 2014).

Todos os pacientes que participaram desse estudo infectados pelo HCV genótipo 2 e 3 eram virgens de tratamento. A RVS no grupo do genótipo 2 ocorreu em 96% dos casos e no genótipo 3 em 89% dos casos. O escape virológico e recidiva não foram verificadas em nenhum paciente com genótipo tipo 2, porém ocorreu em 6% para pacientes com genótipo tipo 3 em ambas as situações (Sulkowski et al., 2014).

Estudo ALLY-3

O estudo avaliou a eficácia e segurança do uso do daclatasvir em combinação do sofosbuvir, durante 12 semanas, em pacientes virgens de tratamento ou falhados na terapia antiviral prévia. A RVS foi atingida em 90% dos pacientes virgens de tratamento e em 86% dos pacientes previamente tratados. A taxa de escape virológico não foi verificada em nenhum paciente, o RNA de HCV detectável ocorreu em 1% dos pacientes virgens de tratamento e em nenhum paciente previamente tratado. A recidiva ocorreu em 9% dos pacientes virgens de tratamento e em 14% dos pacientes previamente tratados (Nelson et al., 2015)

Estudo ALLY-2

O estudo analisou a eficácia e segurança de daclatasvir para o tratamento de 12 semanas em combinação com sofosbuvir em pacientes virgens de tratamento e em pacientes previamente tratados com infecção crônica por hepatite C e coinfectados com HIV. Os pacientes fizeram uso concomitante de antirretrovirais como os inibidores de protease potencializados com ritonavir e os inibidores de transcriptase reversa não-nucleosídeos. Os genótipos de HCV apresentados pelos pacientes eram 1a, 1b, 2, 3 e 4. A taxa de RVS foi de 96% para pacientes virgens de tratamento com HCV genótipo 1a, 97% para pacientes previamente tratados com genótipo 1a e 100% para os pacientes com genótipo 1b. Taxa de 100% de RVS foi também alcançada em 13 pacientes com genótipo 2, 10 pacientes com genótipo 3 e 3 pacientes com genótipo 4 (David et al., 2015).

Estudo ALLY-1

A eficácia e segurança de DAKLINZA em pacientes com cirrose avançada (classes Child-Pugh A, B ou C) ou com recorrência de HCV pós-transplante hepático foram avaliadas neste estudo aberto que incluiu pacientes com infecção por HCV genótipo 1, 2, 3, 4, 5, ou 6. Pacientes receberam daclatasvir mais sofosbuvir e ribavirina por 12 semanas e foram monitorados por 24 semanas após o tratamento. A maioria dos pacientes era previamente tratada e tinha um nível de RNA de HCV inicial maior ou igual a 800.000 IU/mL (Poordad et al., 2016).

As taxas de RVS foram 82% para pacientes com cirrose avançada com genótipo 1; 91% Child-Pugh A, 92% Child-Pugh B e 50% Child-Pugh C. Para os pacientes pós-transplantados com genótipo 1, RVS foi 95%. Para o genótipo 3, taxas de RVS foram de 83% para os pacientes com cirrose avançada e 91% para os pacientes pós-transplantados. Para os genótipos 2, 4 e 6, as taxas de RVS foram 89% para os pacientes com cirrose avançada e 100% (genótipo 6) para o paciente pós-transplantados (Poordad et al., 2016).

5.22 Tratamento a longo prazo com daclatasvir

Existem dados limitados disponíveis de um estudo de acompanhamento, ainda em andamento, para avaliar a durabilidade da resposta até 3 anos após o tratamento com daclatasvir. Entre os 287 pacientes que obtiveram RVS com daclatasvir, alfapéginterferona e ribavirina com uma duração mediana do acompanhamento pós-RVS de aproximadamente 22 meses, 1% dos pacientes apresentou recidiva. Não houve recidiva entre os demais pacientes que obtiveram RVS com daclatasvir e sofosbuvir (\pm ribavirina) com uma duração mediana de acompanhamento pós-RVS de aproximadamente 14,5 meses. (Bristol-Myers Squibb, 2016)

5.23 Resistência e Falhas de Tratamento com DAAs

Os ensaios clínicos e os estudos de “vida real” com esses medicamentos mostram RVS em torno de 95% e 90%, respectivamente. Portanto, cerca de 5 a 10% dos pacientes poderão necessitar de retratamento (SBH e SBI, 2015).

Ainda não se sabe se os testes que detectam resistência do HCV aos fármacos serão úteis antes do retratamento para a escolha do esquema subsequente, sendo necessários mais estudos para responder esta questão. Intuitivamente, os pacientes que falharam em um esquema contendo uma determinada classe de DAA deveriam ser retratados com uma combinação incluindo um medicamento com alta barreira contra resistência (atualmente, sofosbuvir), além de um ou dois outros medicamentos, idealmente sem resistência cruzada com os já administrados (SBH e SBI, 2015).

5.24 Parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos do daclatasvir

As propriedades farmacocinéticas de daclatasvir foram avaliadas em indivíduos adultos saudáveis e em indivíduos com infecção crônica por HCV. Após doses orais múltiplas de 60 mg de daclatasvir uma vez ao dia em combinação com alfapecinterferona e ribavirina em indivíduos infectados por HCV, a média geométrica do $C_{máx}$ (CV%) de daclatasvir correspondeu a 1.534 (58) ng/mL, a AUC_{0-24h} foi de 14.122 (70) ng·h/ml e $C_{mín}$ correspondeu a 232 (83) ng/ml (Bristol-Myers Squibb, 2016).

Daclatasvir administrado como comprimido foi rapidamente absorvido após múltiplas doses orais, com as concentrações plasmáticas máximas ocorrendo entre 1 e 2 horas. A $C_{máx}$, a AUC e a $C_{mín}$ de daclatasvir aumentaram de um modo proporcional à dose. O estado de equilíbrio foi alcançado após 4 dias de administração uma vez ao dia. Com a dose de 60 mg, a exposição a daclatasvir foi semelhante entre indivíduos saudáveis e infectados por HCV. A biodisponibilidade absoluta da formulação em comprimido corresponde a 67% (Bristol-Myers Squibb, 2016).

Em indivíduos saudáveis, a administração de um comprimido de 60 mg de daclatasvir após uma refeição rica em gordura (aproximadamente 1.000Kcal,

aproximadamente 50% derivados de gordura) diminui a $C_{m\acute{a}x}$ e a AUC de daclatasvir em 28% e 23%, respectivamente, em comparação com a administração em condições de jejum. A administração do comprimido de 60 mg de daclatasvir após uma refeição leve (aproximadamente 275 kcal, aproximadamente 15% derivado de gordura) não reduziu a exposição a daclatasvir (Bristol-Myers Squibb, 2016).

Em estado de equilíbrio, a ligação a proteínas de daclatasvir em indivíduos infectados por HCV correspondeu a aproximadamente 99% e foi independente da dose na faixa posológica estudada (1mg a 100mg). Em indivíduos que receberam o comprimido de 60mg de daclatasvir por via oral seguido de uma dose intravenosa de 100µg de daclatasvir, o volume de distribuição estimado no estado de equilíbrio correspondeu a 47 litros (Bristol-Myers Squibb, 2016).

Estudos in vitro demonstraram que daclatasvir é um substrato de CYP3A, sendo que CYP3A4 é a principal isoforma de CYP responsável pelo metabolismo. Nenhum metabólito circulou em níveis acima de 5% da concentração original (Bristol-Myers Squibb, 2016).

Após a administração oral de uma dose única de ^{14}C -daclatasvir a indivíduos saudáveis, 88% da radioatividade total foi recuperada nas fezes (53% como medicamento inalterado) e 6,6% foram excretados na urina (principalmente como medicamento inalterado). Após a administração de doses múltiplas de daclatasvir a indivíduos infectados por HCV, a meia vida de eliminação terminal de daclatasvir variou de 12 a 15 horas. Em indivíduos que receberam o comprimido de 60 mg de daclatasvir por via oral seguido de uma dose intravenosa de 100 µg de [^{13}C , ^{15}N]-daclatasvir, o *clearance* total correspondeu a 4,24 L/h (Bristol-Myers Squibb, 2016).

5.25 Prevenção da Hepatite C

De acordo com Brevidelli e Cianciarullo (2001), a fim de minimizar o risco de exposição às infecções sanguínea, certas precauções são recomendadas, entre elas, a manipulação cuidadosa de objetos pérfuro-cortantes - que inclui o ato de não

reencapar agulhas e a utilização de equipamento individual de proteção como: utilização de luvas descartáveis, máscaras, óculos de proteção, jaleco de manga longa e com punho.

Para Ferreira e Silveira (2004), a prevenção deve focalizar o aconselhamento de pessoas que usam drogas ou que estão em risco de uso, e aquelas com práticas sexuais também consideradas de risco.

Aconselhamento e testes laboratoriais devem ser conduzidos em locais ou situações onde indivíduos de risco são localizados, como, por exemplo, prisões, clínicas que tratam portadores de doenças sexualmente transmissíveis e instituições para tratamento de usuários de drogas. Para serem eficazes, as atividades de prevenção nesses locais frequentemente exigem um atendimento multidisciplinar dirigido a aspectos do uso de drogas, médicos, psicológicos, sociais e legais (WHO, 2017).

6. CONCLUSÃO

Com o advento dessa nova classe de fármacos, hoje há uma esperança de cura para pacientes portadores da hepatite C. Além da cura da doença, o tratamento possui um benefício adicional, pois acompanha poucos e menos sérios eventos adversos, aumentando a aderência do paciente ao tratamento e, com isso, diminuindo as taxas de resistência viral entre a população.

Apesar do grande avanço, ainda o número de pacientes sem tratamento é extenso e novos casos de infecção ano continuam surgindo a cada.

Existem grandes entraves no cenário da cura da Hepatite C no Brasil que contribuem para a grandeza dos números envolvendo a doença, como, por exemplo, o custo do medicamento. Segundo a tabela de preços Máximos de Medicamentos por Princípio Ativo, uma caixa com 28 comprimidos de daclatasvir 30mg custa R\$12.000,00 e a apresentação de 60mg custa R\$24.000,00, em média. E ainda somam-se ao tratamento os custos dos medicamentos que devem

mandatoriamente combinados ao tratamento como Sofosbuvir (R\$90.000,00 – 400mg -28 comprimidos) e Ribavirina (R\$150,00 – 250mg – 140 comprimidos).

Apesar dos novos tratamentos para Hepatite C terem dado um grande passo no caminho da cura da doença, pudemos observar que ainda existem dificuldades no cenário de controle de transmissão, diminuição da incidência e cura dos casos existentes. É preciso investir em políticas públicas para prevenção da distribuição da doença e para descoberta precoce de novos casos. Como fator principal, é necessário eliminar a distância entre os pacientes infectados e o tratamento disponível.

7. BIBLIOGRAFIA

Almeida et al., 2006. Almeida PRL, Mattos AA, Mattos AZ, Santos D, Tovo CV. Prevalência ambulatorial em um hospital geral de marcadores para hepatites B e C em pacientes com infecção pelo vírus da imunodeficiência humana. *Arquivos de Gastroenterologia*. 2006; 43 (2).

Appel et al., 2005. Appel N, Pietschmann T, Bartenschlager R. Mutational analysis of hepatitis C virus nonstructural protein 5A: potential role of differential phosphorylation in RNA replication and identification of a genetically flexible domain. *J Virol*. 2005; 79: 3187–3194.

Barba et al., 1997. Barba G, Harper F, Harada T, Kohara M, Goulinet S, Matsuura Y, Eder G, Schaff Z, Chapman MJ, Miyamura T, Bréchet C. Hepatitis C virus core protein shows a cytoplasmic localization and associates to cellular lipid storage droplets. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Feb 18;94(4):1200-5.

Bartosh et al., 2003. Bartosch, B, Dubuisson, J & Cosset. Infectious hepatitis C virus pseudo-particles containing functional E1-E2 envelope protein complexes. *Journal of Experimental Medicine* 197: 633–642

Batallan et, al., 2003. Batallan A, Faucher P, Poncelet C, Demaria F, Benifla JL, Madelenat P. Mother-to-child transmission of hepatitis C virus: recent news about the benefit of cesarian sections. *Gynecol Obstet Fert.* 2003; 31 (11): 964-968.

Bost-Bru, 1999. Bost-Bru C. The pediatrician and hepatitis C virus. *Arch Pediatr.* 1999; 6(100): 1122-5.

Brasil, 2015. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções - Relatório de Recomendação.

Brasil, 2005. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Hepatites virais: o Brasil está atento / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica.

Brass et al., 2002. Brass V, Bieck E, Montserret R, Wolk B, Hellings JA, Blum HE, Penin F, Moradpour D. An amino-terminal amphipathic alpha-helix mediates membrane association of the hepatitis C virus nonstructural protein 5A. *J Biol Chem.* 2002; 277: 8130–8139.

Brevidelli e Cianciarullo, 2001. Brevidelli, M. M.; Cianciarullo, T. I. Aplicação do modelo de crenças em saúde na prevenção dos acidentes com agulha. *Revista de Saúde Pública, São Paulo, v.35, n.2 abr. 2001.*

Bristol-Myers Squibb, 2016. Bula de Daklinza para o profissional de saúde - Rev0916 - Bristol-Myers Squibb Farmacêutica S.A. (2015).

Buratti E, Di Michele M, Song P, Monti-Bragadin C, Scodeller EA, Baralle FE, Tisminetzky SG. Improved reactivity of hepatitis C virus core protein epitopes in a conformational antigen-presenting system. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1997.

Choo et al., 1989. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*. 1989;244:359-362.

David et al., 2015. David L. Wyles, M.D., Peter J. Ruane, M.D., Mark S. Sulkowski, M.D., Douglas Dieterich, M.D., Anne Luetkemeyer, M.D., Timothy R. Morgan, M.D., Kenneth E. Sherman, M.D., Ph.D., Robin Dretler, M.D., Dawn Fishbein, M.D., Joseph C. Gathe, Jr., M.D., Sarah Henn, M.D., Federico Hineostroza, M.D. Daclatasvir plus Sofosbuvir for HCV in Patients Coinfected with HIV-1. *N Engl J Med* 2015; 373:714-725.

Davis et al., 2003. Davis GL, Albright JE, Cook SF, Rosenberg DM. Projecting future complications of chronic hepatitis C in the United States. *Liver Transpl*. 2003 Apr; 9(4):3318.

Demarini et al., 2003. Douglas J DeMarini, Victor KJohnston, MadhaviKonduri, Lester L Gutshall; Robert T Sarisky. Intracellular hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase activity. *Journal of Virological Methods*. 2003; 113 (1): 65-68

Dumoulin et al., 2003. Dumoulin FL, von dem Bussche A, Li J, Khamzina L, Wands JR, Sauerbruch T, Spengler U. Hepatitis C virus NS2 protein inhibits gene expression from different cellular and viral promoters in hepatic and nonhepatic cell lines. *Virology*. 2003; 305:260–266.

Durant e Valla, 2005. François Durand, Dominique Valla. Assessment of the prognosis of cirrhosis: Child–Pugh versus MELD. *Journal of Hepatology*. 2005; 42: S100–S107.

Elazar et al., 2003. Elazar M, Liu P, Rice CM, Glenn JS. An N-terminal amphipathic helix in hepatitis C virus (HCV) NS4B mediates membrane association, correct localization of replication complex proteins, and HCV RNA replication. *J Virol*. 2004;78:11393–11400.

Fauquet et al., 2005. Fauquet, C.M., Mayo, M.A., Maniloff, J., Desselberger, U. & Ball, L.A. 2005. Virus Taxonomy, Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier/Academic Press, London, Jun 2005

Farci et al., 2000. Farci, P, Purcell RH. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes and quasispecies. *Semin Liver Dis.* 200; 20 (1): 103-26.

Ferreira e Silveira, 2004. Ferreira, C. T.; Silveira, T. R. Hepatites virais: aspectos da epidemiologia e da prevenção. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, São Paulo, v.7, n.4 dez. 2004.

Focaccia et al., 1998. Focaccia R, da Conceição OJ, Sette H Jr, Sabino E, Bassit L, Nitrini DR, et al. Estimated prevalence of viral hepatitis in the general population of the Municipality of Sao Paulo, Measured by a Serologic Survey of a Stratified, Randomized and Residence-Based Population. *Braz J Infect Dis.* 1998; 2:269-84.

Franck et al., 2005. Franck N, Le Seyec J, Guguen-Guillouzo C, Erdtmann L. Hepatitis C virus NS2 protein is phosphorylated by the protein kinase CK2 and targeted for degradation to the proteasome. *J Virol.* 2005;79:2700–2708.

Fridell et al., 2011. Robert A. Fridell, Dike Qiu, Lourdes Valera, Chunfu Wang, Ronald E. Rose and Min Gao. Distinct Functions of NS5A in Hepatitis C Virus RNA Replication Uncovered by Studies with the NS5A Inhibitor BMS-790052. *J. Virol.* 2011; 85(14): 7312-7320.

Gale et al., 1999. Gale MJ Jr, Korth MJ, Katze MG. Repression of the PKR protein kinase by the hepatitis C virus NS5A protein: a potential mechanism of interferon resistance. *Clin Diagn Virol.* 1998;10:157–162.

Gross et al., 2001. Gross JB. Hepatitis C: a sexually transmitted disease? *Am J Gastroenterol.* 2001; 96 (11): 3051-53.

Joo e Habn, 2000. Joo M, Habn YS. Animal models for immune defects caused by hepatitis C virus. *Molecular Medicine Today* 6:167-177, 2000

Kamoshita N, Tsukiyama-Kohara K, Kohara M, Nomoto A. Genetic analysis of internal ribosomal entry site on hepatitis C virus RNA: implication for involvement of the highly ordered structure and cell type-specific transacting factors. Kamoshita N, et al. *Virology*. 1997.

Kim, 2002. Kim WR. The burden of hepatitis C in the United States. *Hepatology*. 2002 Nov;36(5 Suppl 1): S30-4.

Kobayashi et al., 2004. Kobayashi, G. S.; MURRAY, P. R; Pfaller, M. A.; Rosental, K. S. *Microbiologia Médica* 4^o ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p.567568.

Kohara, 2000. Kohara M. Hepatitis C virus replication and pathogenesis. *J Dermatol Sci*; 22(3): 167-8.

Liang et al., 2000. Liang TJ, Rehermann B, Seeff LB, Hoofnagle JH. Pathogenesis, natural history, treatment, and prevention of hepatitis C. *Ann Intern Med*. 2000 Feb 15; 132(4):296-305.

Lindenbach e Rice, 2005. Lindenbach BD, Rice CM. Unravelling hepatitis C virus replication from genome to function. *Nature*. 2005;436:933–938

Matthews-Greer JM, Caldito GC, Adley SD, Willis R, Mire AC, Jamison RM, Mcrae KL, King JW, Chang WL. Comparison of Hepatitis C viral loads in patients with or without human immunodeficiency virus. *Clin Diagn Immunol*. 2001; 8(4): 690-4.

Mendes-Correa et al., 2001. Mendes-Correa MCJ, Barone AA, Guastini C. Hepatitis C virus seroprevalence and risk factors among patients with HIV infection. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2001; 43(1): 15-9.

Miyamura et al., 1993. Miyamura T, Matsuura Y. Structural proteins of hepatitis C virus. *Trends Microbiol*. 1993 Sep; 1(6): 229-31.

Moradpour et al. Moradpour, D. & Rice, C. M. in Hepatology. A textbook of liver disease. Elsevier Science,.2006: 125–147.

Paltanin e Reichd, 2002. Paltanin LF, e Reiche EM. Seroprevalence of anti-hepatitis C virus antibodies among blood donos. Rev Saúde Pública. 2002; 36(4): 393-9.

Pang et al., 2002. Phillip S. Pang, Eckhard Jankowsky, Paul J. Planet, and Anna Marie Pyle. The hepatitis C viral NS3 protein is a processive DNA helicase with cofactor enhanced RNA unwinding. EMBO J. 2002; 21(5): 1168–1176.

Pawlotsky et al., 1999. Pawlotsky JM. Diagnost test for hepatitis C. J Hepatol. 199; 31 (Supl 1): 71-9.

Penin et al. 2004. François Penin, Jean Dubuisson, Felix A. Rey, Darius Moradpour, Jean-Michel Pawlotsky. Structural biology of hepatitis C virus. Hepatology. 2004; 39 (1): 5-19

Penin et al., 2004a. Penin F, Brass V, Appel N, Ramboarina S, Montserret R, Ficheux D, Blum HE, Bartenschlager R, Moradpour D. Structure and function of the membrane anchor domain of hepatitis C virus nonstructural protein 5A. J Biol Chem. 2004a;279:40835–40843.

Penin et al., 2004b. Penin F, Dubuisson J, Rey FA, Moradpour D, Pawlotsky JM. Structural biology of hepatitis C virus. Hepatology. 2004b; 39: 5–19.

Tellinghuisen e Rice, 2002. Tellinghuisen TL, Rice CM. Interaction between hepatitis C virus proteins and host cell factors. Curr Opin Microbiol. 2002;5:419–427.

Poordad et al., 2016. Poordad F, Schiff ER, Vierling JM, Landis C, Fontana RJ, Yang R, McPhee F, Hughes EA, Noviello S, Swenson ES. Daclatasvir with sofosbuvir and ribavirin for hepatitis C virus infection with advanced cirrhosis or post-liver transplantation recurrence. Hepatology. 2016 May;63(5):1493-505.

Rosen e Gretch, 1999. Rosen HR, Gretch DR. Hepatitis C virus: current understanding and prospects for future therapies. *Mol Med Today*. 1999 Sep;5(9):393-9.

Rosenberg, 2001. Steven Rosenberg. Recent advances in the molecular biology of hepatitis C virus. *Journal of Molecular Biology*. 2001; 313 (3): 451-464

Sakai et al., 2003. Sakai, A., Claire, M. S., Faulk, K., Govindarajan, S., Emerson, S. U., Purcell, R. H. & Bukh, J. (2003). The p7 polypeptide of hepatitis C virus is critical for infectivity and contains functionally important genotype-specific sequences. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 11646–11651.

Schroter et al., 2003. Schroter M1, Feucht HH, Zöllner B, Schäfer P, Laufs. Multiple infections with different HCV genotypes: prevalence and clinical impact. *J Clin Virol*. 2003 Jul;27(2):200-4.

Silini et al., 1995b. Silini E1, Bono F, Cividini A, Cerino A, Bruno S, Rossi S, Belloni G, Brugnetti B, Civardi E, Salvaneschi L, et al. Differential distribution of hepatitis C virus genotypes in patients with and without liver function abnormalities. *Hepatology*. 1995 Feb;21(2):285-90.

Stumpf e Pybus, 2002. Stumpf MP, Pybus OG. Genetic diversity and models of viral evolution for the hepatitis C virus. *FEMS Microbiol Lett*. 2002 Sep 10;214(2):143-52.

Tellinghuisen et al., 2004. Tellinghuisen TL, Marcotrigiano J, Gorbalenya AE, Rice CM. The NS5A protein of hepatitis C virus is a zinc metalloprotein. *J Biol Chem*. 2004;279:48576–48587.

Tellinghuisen e Rice, 2002. Tellinghuisen TL, Rice CM. Interaction between hepatitis C virus proteins and host cell factors. *Curr Opin Microbiol*. 2002; 5: 419–427.


Tomassini et al., 2003. Carroll SS1, Tomassini JE, Bosserman M, Getty K, Stahlhut MW, Eldrup AB, Bhat B, Hall D, Simcoe AL, LaFemina R, Rutkowski CA, Wolanski B, Yang Z, Migliaccio G, De Francesco R, Kuo LC, MacCoss M, Olsen DB. Inhibition

of hepatitis C virus RNA replication by 2'-modified nucleoside analogs. J Biol Chem. 2003; 278(14): 11979-84

Sallie, 2004. Sallie R. Replicative homeostasis: a mechanism of viral persistence. Med Hypotheses. 2004; 63(3): 515-23.

Strauss, 2001. Strauss E. Hepatitis C. Ver Soied Brasil Med Trop. 2001; 34 (1): 69-82.

Zeuzem et al.,2010. Zeuzem S, Feinman SV, Rasenack J, Heathcote EJ, Lai MY, Gane E, O'Grady J, Reichen J, Diago M, Lin A, Hoffman J, Brunda MJ. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C. N Engl J Med. 2000 Dec 7; 343(23):1666-72.

<u>Bruna Assaf Mateus</u>	São Paulo, 20/04/2018		São Paulo, 19/04/2018
Data e assinatura do aluno(a)		Data e assinatura do orientador(a)	