

Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

## **Agradecimento**

Não podia dar por terminado este trabalho sem fazer alguns merecidos agradecimentos:

- Aos meus colegas e amigos pelos inesquecíveis momentos vividos e compartilhados ao longo de seis anos de faculdade.
- Ao Heitor, ao Ricardo, ao Patrício por estarem sempre presentes e por serem verdadeiros amigos.
- Ao João pela amizade e por toda a disponibilidade e ajuda dada na realização deste trabalho.
- À família pelo inestimável apoio dado ao longo de toda a minha vida.
- Ao Dr. Eduardo Serra pelos artigos que me cedeu e pela disponibilidade demonstrada.
- Um agradecimento especial à Dra. Isabel Ramos, por ter sido uma verdadeira orientadora, sempre disponível a dar todo o apoio e transmitir o seu conhecimento.

**Índice**

Agradecimento .....	2
Resumo.....	4
Abstract .....	5
Objectivos .....	6
Introdução .....	7
Epidemiologia .....	7
Características do VHC.....	9
Genótipos e variabilidade genética .....	12
História natural e vias de contágio .....	13
Desenvolvimento.....	17
Terapêutica da Hepatite C Crónica .....	17
Evolução Histórica .....	17
Interferão .....	19
Ribavirina.....	21
Orientações terapêuticas.....	22
Optimização dos esquemas terapêuticos actuais .....	29
Novos esquemas terapêuticos.....	29
Novos Interferões .....	32
Novas ribavirinas.....	35
Inibidores da inosina monofosfato desidrogenase.....	36
Fármacos antivirais específicos.....	37
Inibidores da entrada na célula.....	38
Inibidores das proteínas de translação.....	39
Inibidores da protease.....	40
Inibidores da polimerase .....	43
Inibidores de montagem e libertação.....	47
Imunomoduladores .....	47
Outros .....	49
Conclusão.....	50
Bibliografia .....	53

## Resumo

A hepatite C crónica representa uma importante causa de morbilidade e mortalidade a nível mundial. Estima-se actualmente que cerca de 3% da população mundial se encontre infectada com este vírus, o que representa cerca de 170 milhões de pessoas por todo o mundo.

Apesar de ter havido um claro desenvolvimento das estratégias terapêuticas desde a descoberta do vírus da hepatite C em 1989, ainda hoje existem certos grupos, nomeadamente os infectados com vírus da hepatite C genótipo 1 ou 4, nos quais a eficácia terapêutica é de cerca de 55% dos doentes tratados, sendo ainda mais baixa em doentes não respondedores ou em doentes que recidivaram após tratamento inicial. Devido a este facto existe um grande interesse na comunidade médica especializada no sentido de alcançar melhores resultados terapêuticos, passando este objectivo pela optimização dos esquemas terapêuticos actuais e pelo descobrimento de novos fármacos específicos contra este vírus.

Actualmente o tratamento baseia-se no uso de interferão peguilado e ribavirina durante diferentes períodos de tempo, dependendo do genótipo infectante. A optimização destes esquemas passa pelo aumento ou diminuição da sua duração mediante as taxas de resposta a 4ª semana (resposta virológica rápida) ou à 12ª semana (resposta virológica inicial). Passa ainda pela diminuição dos efeitos adversos destes medicamentos, através da descoberta de novos interferões e novas ribavirinas ou do uso de factores de crescimento, melhorando assim a qualidade de vida dos doentes e aumentando a sua adesão ao tratamento.

Outro tipo de abordagem visa a descoberta de novos medicamentos que actuem em vias específicas do ciclo de vida viral, tais como, inibidores da entrada na célula, inibidores da protease, inibidores da polimerase e inibidores da montagem e libertação viral. Existe ainda outra via que tem sido abordada para tentar combater esta infecção, intervindo na

Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

imunomodulação dos mecanismos de defesa do hospedeiro, permitindo assim uma maior eficácia na eliminação viral.

Apesar de existirem melhorias significativas no tratamento e alguns resultados encorajadores destes novos fármacos, há ainda um longo caminho a percorrer no sentido de alcançar resultados terapêuticos ideais na luta contra esta patologia.

**Palavras-chave:** Hepatite C crónica, tratamento actual, novos esquemas terapêuticos, novos interferões, novas ribavirinas, inibidores de entrada, inibidores da protease, inibidores da polimerase, inibidores da libertação, imunomoduladores.

### **Abstract**

Chronic hepatitis C represents an important cause of morbidity and mortality around the world. It is thought that near to 3% of the world population is infected with this virus, which represents close to 170 million people worldwide.

Despite the development of new therapeutic strategies since the discovery of the hepatitis C virus in 1989, there are still today some groups of people, like those who are infected with the hepatitis C virus genotype 1 or 4, in which the rate of therapeutic success is only around 55%, and it is even lower in those who have not responded or have relapsed after the first treatment.

Due to this fact there is a great interest in the specialized medical community with the goal of achieving better therapeutic results, through the optimization of current regimens and the discovery of new drugs against this specific virus.

Currently the treatment is based on the use of pegylated interferon and ribavirin during different periods of time, depending on the infecting genotype. The optimization of these schemes is done by increasing or decreasing the length of the treatment depending on the

Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

response rates at week 4 (rapid virological response) or at week 12 (early virological response). This can also be achieved by decreasing the adverse side-effects of these drugs through the discovery of new interferon and ribavirin or with the use of growth factors, thus improving the quality of life of patients and increasing their adherence to treatment.

Another type of approach is through the discovery of new drugs that act on specific ways of the viral life cycle, such as the cellular infection inhibitors, protease and polymerase inhibitors and the virus assembly and release inhibitors. Furthermore, another way that has been approached to try to combat this infection, is through immunomodulation of the host defense mechanisms, thereby improving the efficiency of virus elimination.

Despite the significant improvements in treatment and some encouraging results of these new drugs, there is still a long way to go to achieve optimal therapeutic results in the fight against this disease.

**Key Words:** Chronic hepatitis C, guidelines, new therapeutics, new interferons, new ribavirins, cellular infection inhibitors, protease inhibitors, polimerase inhibitors, virus assembly inhibitors, immunomodulation.

## Objectivos

Os objectivos deste trabalho passam pela realização de uma revisão sistemática do tratamento da hepatite C crónica, tanto a nível da abordagem actual como de terapêutica futura, tendo por base literatura publicada nos últimos anos nas mais prestigiadas revistas da especialidade.

## **Introdução**

### **Epidemiologia**

A hepatite C é uma doença largamente disseminada por todo o globo, sendo a principal causa de patologia hepática crónica. Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) estima-se que existam cerca de 170 milhões de pessoas infectadas cronicamente com o vírus da hepatite C (VHC) no mundo inteiro, correspondendo a cerca de 3% da população mundial (1).

A incidência da infecção pelo VHC tem vindo a diminuir em praticamente todos os países, devendo-se este facto sobretudo à descoberta do agente responsável pela infecção em 1989, e à possibilidade de intervir sobre as principais vias de transmissão. O desenvolvimento de técnicas de detecção do VHC nos produtos sanguíneos com possibilidade de rastrear dádivas de sangue, diminuiu muito o número de hepatites pós-transfusionais. Outro factor importante para esta redução foi o desenvolvimento de programas de trocas de seringas, levados a cabo em diferentes países, contribuindo para reduzir a transmissão do vírus no seio de um dos principais grupos de risco, os toxicodependentes. Dados dos Estados Unidos da América (EUA) mostram que o pico de incidência foi atingido entre as décadas de 1960 e 1980, rondando os 250,000 casos por ano, tendo diminuído para valores de cerca de 40,000 novos casos/ano, depois da adopção de medidas preventivas, após 1992 (2). Apesar deste decréscimo na incidência, a prevalência da doença hepática relacionada com o VHC tem vindo a aumentar, estimando-se que o número de mortes relacionadas com a hepatite C crónica (HCC) seja de aproximadamente 165,000 doentes nos EUA, entre os anos de 2010 e 2019 (3). Isto explica-se devido à história natural da infecção por VHC e à sua elevada

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

tendência para a cronicidade e evolução para cirrose hepática (CH) e carcinoma hepatocelular (CHC) ao longo de 20 a 30 anos após infecção inicial.

O padrão de prevalência varia um pouco consoante a região do globo considerada. Assim, nos EUA, a prevalência de anticorpos para o VHC é cerca de 1 a 2% da população, sendo o grupo etário mais atingido dos 30-49 anos, enquanto os grupos abaixo dos 20 anos e acima dos 60, apresentam uma menor taxa de infecção. Isto aponta para um padrão de transmissão que ocorreu a cerca de 10 a 30 anos. Por sua vez, no Japão e em Itália, a prevalência da infecção é baixa nas faixas etárias das crianças e adultos jovens, aumentando progressivamente nos grupos etários mais elevados, levando a pensar que a transmissão se deu num passado mais distante, acerca de 40-50 anos. Outro tipo de distribuição acontece no Egipto onde a prevalência de anticorpos para VHC na população atinge os 20%, sendo a taxa de infecção elevada em todos os grupos etários (4). Dados da OMS (1999) mostram uma prevalência inferior a 2,5% nos EUA, Europa e Sudeste asiático. Em África esta situa-se em valores acima dos 5%, destacando-se o já referido caso do Egipto onde se estima ser cerca de 20%. No Pacífico Ocidental as taxas de prevalência variam entre os 2,5% e os 4,9% e no Médio Oriente estão entre os 1% e os 12% da população.

Em Portugal os dados existentes sobre a incidência e prevalência da infecção por VHC são poucos. Actualmente estima-se que cerca de 140,000 portugueses apresentem positividade para os anticorpos anti-VHC. Os estudos feitos mostram que esta infecção é predominante no sexo masculino, atingindo sobretudo a faixa etária dos 25 aos 45 anos e a raça caucasiana. As principais vias de transmissão no nosso país são o contacto com drogas de consumo endovenoso (nomeadamente devido à partilha de seringas) e a transmissão por via sexual. Em termos de genótipos verifica-se que o mais prevalente é o genótipo 1, responsável por cerca de 53% das infecções, seguido do genótipo 3 com 34% e dos genótipos 4 e 2 com prevalência de 10% e 3% respectivamente (4).



### **Características do VHC**

O genoma do VHC foi identificado em 1989 por Choo e os seus colaboradores, permitindo dar um rosto à etiologia da, até então conhecida como, hepatite não-A não-B (1).

O VHC pertence à família dos *Flaviviridae*, género dos *Hepacivirus* (5). Este vírus é constituído por uma molécula de ácido ribonucleico (ARN) de cadeia simples com aproximadamente 9,6 Kbases de extensão de sentido positivo, contendo um invólucro lipídico. Recentemente através do uso de técnicas de crio-microscopia foi possível comprovar que o VHC tem forma esférica e apresenta cerca de 50-55 nm de diâmetro. O seu genoma é constituído por 10 genes organizados numa cadeia única ininterrupta (OPR – *open reading frame*), contendo nas extremidades 5' e 3' regiões não codificantes (UTR- *untranslated regions*) altamente conservadas. Esta característica específica faz delas excelentes candidatas a: 1- alvos da terapêutica antivírica, 2- alvos de uma futura vacina anti-VHC, 3- como marcadores moleculares de infecção (6). A região UTR 5' actua como local de ligação ao ribossoma da célula do hospedeiro, funcionando como iniciador da tradução da região codificante, não sendo necessário qualquer factor promotor. Esta zona do ARN viral forma a chamada *internal ribosome entry site* (IRES) composto pelos domínios II-IV, que aparecem como uma zona prometedora para a acção de novos fármacos. A região UTR 3' apresenta três segmentos. Os dois primeiros são segmentos variáveis e o terceiro é constituído por 98 bases, sendo uma das sequências mais conservadas ao longo do vírus (sequência 3-X). Esta é necessária para a replicação viral, nomeadamente para o início da síntese da cadeia negativa.

A molécula de ARN codifica uma poliproteína com cerca de 3000 aminoácidos (aa), que irá ser clivada por múltiplas enzimas virais e do hospedeiro, durante a replicação vírica, em dez proteínas: três proteínas estruturais (Core, E1 e E2) e sete proteínas não estruturais (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B). Os genes estruturais que codificam as proteínas

Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

do core (C) e do invólucro (E1 e E2) estão localizadas na região terminal 5' do fragmento de leitura, sendo seguidos pelos genes que codificam as proteínas não estruturais. As proteínas C, E1 e E2 são essenciais para a formação de viriões, enquanto que as proteínas não estruturais estão envolvidas nos processos de replicação do ARN e da morfogenese dos viriões (7).

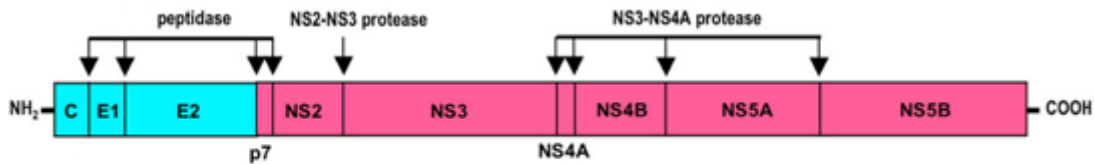


Ilustração 1 - Estrutura da poliproteína do VHC (adaptada) (7)

A proteína do core apresenta-se como uma proteína multifuncional. Ela é o principal componente da estrutura da capsíde vírica. Para além desta função pensa-se que ela tenha ainda funções reguladoras da montagem do vírus e da transcrição do ARN vírico e da sua ligação. Novos dados apontam para a possibilidade desta proteína estar envolvida em várias reacções celulares nomeadamente na estimulação ou inibição da apoptose, no metabolismo lipídico bem como no processo de carcinogenese relacionado com o VHC (7).

As proteínas E1 e E2 são proteínas transmembranares, pensando-se hoje que possam estar envolvidas na ligação ao receptor celular CD81 e ao receptor de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), responsáveis pela fusão entre o invólucro viral e a membrana celular. O mecanismo de entrada do vírus na célula do hospedeiro não está ainda totalmente esclarecido, podendo ainda estar envolvidas outras proteínas do hospedeiro. Foram identificadas duas regiões hipervariáveis (HVR 1 e HVR 2) na região codificante de E2. HVR 1 é composta por 27 aa e HVR 2 por 7 aa, apresentando diferenças significativas entre os genótipos e dentro do mesmo genótipo. Elas parecem ser as principais responsáveis pelo mecanismo de fuga imunológica do VHC. A proteína E2 parece ainda inibir uma proteína cinase PKR induzida

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

pelo interferão (IFN), podendo estar relacionada com a limitação da actividade antivírica deste fármaco (4).

A proteína p7 tem 63 aa, funcionando como uma proteína membrana do retículo endoplasmático, onde forma um canal iónico. Ela não parece ser essencial para a replicação do ARN, mas foi sugerido que poderia ter um papel importante na formação de novos viriões.

A proteína não estrutural NS2 forma com a proteína NS3 um complexo que funciona como protease de cisteína que cataliza a clivagem entre NS2 e NS3 na poliproteína. É ainda responsável pela clivagem entre p7 e NS2. Ela parece ainda estar envolvida na fase inicial da morfogenese dos novos viriões.

A porção N-terminal de NS3 vai formar com NS4A uma proteína com capacidade de protease de serina que vai clivar os restantes componentes da poliproteína viral, ou seja as junções entre NS3/NS4A, NS4A/NS4B, NS4B/NS5A e NS5A/NS5B. Esta enzima é essencial para a replicação viral parecendo bastante prometedora como alvo das novas terapêuticas contra o VHC. A porção C-terminal de NS3 pode funcionar como ATPase/helicase, estando envolvida na ligação e desenrolamento do ARN vírico durante a sua replicação. Na sua actividade de helicase parece também estar envolvida a proteína NS5B. Para além disto esta proteína parece ter um papel importante na manutenção da infecção por VHC devido á inibição do sistema imunitário inato, através do bloqueio do *tool-like receptor* e consequentemente das vias de acção do IFN (4).

A função da proteína NS4B é ainda desconhecida, mas foi já comprovado que ela induz uma teia membrana que serve de plataforma para a replicação viral. O papel essencial que esta proteína parece ter na replicação viral, faz dela um alvo potencial para a terapêutica anti-VHC ou para a formulação de uma vacina (7).

A NS5A é uma fosfoproteína-membrana multifuncional. Ela parece estar associada a múltiplas proteínas celulares. Talvez a função mais relevante da NS5A seja o facto de ela

Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

conter um domínio de 40 aa (ISDR – *Interferon- $\alpha$  sensivity determining region*), que parece estar relacionado com a sensibilidade do VHC ao INF.

A proteína não estrutural NS5B é uma a ARN polimerase dependente de ARN, que intervém na síntese da cadeia negativa de ARN que serve de molde á formação de cadeias de sentido positivo. Ela é também um alvo primordial para as novas terapêuticas contra o VHC (7).

### **Genótipos e variabilidade genética**

O VHC apresenta uma grande variabilidade genética. Isto deve-se sobretudo a factores derivados do próprio vírus e a factores dependentes da resposta imulógica do hospedeiro. O VHC apresenta uma alta taxa de replicação (semi-vida de 2,5 horas e cerca de  $1.0 \times 10^{12}$  viriões produzidos por dia), bem como uma elevada taxa de erro da sua NS5B ARN polimerase, o que condiciona uma elevada taxa de mutações e consequentemente a uma grande diversidade genética (4). Outro factor responsável por esta variedade é a selecção de partículas mutantes feita pelo sistema imunitário do hospedeiro. Daqui resulta que num mesmo hospedeiro circulem várias partículas do mesmo vírus, que são ligeiramente diferentes, e as quais se designam habitualmente por *quasispecies*. Estas apresentam, nas regiões mais constantes do genoma do VHC (core, E1 e NS5), uma semelhança de 91-97%. Durante a infecção crónica estas pequenas variantes do VHC encontram-se em equilíbrio dentro do hospedeiro, podendo este ser alterado por factores tais como infecções intercorrentes, alterações metabólicas ou terapêutica antivírica. A presença de *quasispecies* num mesmo indivíduo vai ter repercussões a nível da persistência da infecção, sua severidade, evolução, resposta à terapêutica e recorrência pós-transplante (7).

A diversidade genética do VHC condicionou o aparecimento de vários genótipos e subtipos diferentes, com várias distribuições geográficas. Os genótipos e subtipos apresentam

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

divergências genómicas de 30-35% e 15-20 % respectivamente (8). Assim hoje em dia considera-se a existência de 6 genótipos de VHC e mais de 100 subtipos. Na Europa e EUA predominam os genótipos 1a, 1b, 2a, 2b, 2c e 3a, chegando a representar cerca de 90% das infecções por VHC. O genótipo 4 é encontrado sobretudo no Médio Oriente e no Norte e Centro de África (50% dos casos na África Central e Egipto), enquanto que na região Ocidental de África prevalecem os genótipos 1 e 2. O genótipo 5 é característico da África do Sul (onde representa cerca de 50% das infecções) e o genótipo 6 encontra-se sobretudo no Sudeste Asiático. Há ainda algumas variações dos genótipos dentro da mesma região em diferentes populações, verificando-se uma elevada prevalência do genótipo 3a na população de toxicodependentes dos países ocidentais (4).

Todos estes genótipos codificam o mesmo tipo de proteínas víricas, apresentando no entanto diferenças antigénicas e biológicas que vão condicionar diferentes respostas à terapêutica. Daí ser de extrema importância o conhecimento do genótipo infectante, pois isto tem implicações a nível evolução da infecção e prognóstico do tratamento. Sabe-se assim que os indivíduos portadores de infecção por genótipos 2 e 3 necessitam, em regra, de menos tempo de tratamento e apresentam menores taxas de recorrência em relação aos infectados com VHC de genótipo 1 e 4, os quais precisam de um terapêutica mais prolongada e tem maiores índices de resistências e recorrências (1).

### **História natural e vias de contágio**

A infecção por VHC, que começou por ser conhecida por hepatite não-A não-B e era considerada uma patologia benigna pós-trasfusional, caracterizava-se pela ausência de sintomas em fase aguda, acompanhada pela elevação das aminotransferases e, raramente, se apresentava com icterícia. O conhecimento da história natural desta doença torna-se difícil

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

devido á elevada percentagem de casos agudos assintomáticos e a sua evolução lenta para cronicidade. Há vários factores que parecem influenciar a progressão da doença, incluindo factores derivados do próprio vírus, factores dependentes do hospedeiro e factores externos. Dentro do primeiro grupo destacam-se a quantidade de inócuo viral, o genótipo infectante e a diversidade de *quasispecies*. Há ainda alguma controvérsia sobre a verdadeira influência destes factores na progressão natural da infecção por VHC. No que diz respeito a características do hospedeiro, sabe-se que doentes do sexo masculino, doentes de idade mais avançada à data da infecção e/ou com co-infecção VHC-VIH ou VHC-VHB apresentam progressão mais rápida para fibrose hepática. Outros factores como o depósito de ferro hepático, esteatose, obesidade e diabetes parecem também eles contribuir para uma evolução mais rápida da doença hepática. Os factores externos que mais influenciam a evolução da doença são o consumo de álcool, o consumo de tabaco e alguns autores chamam ainda a atenção para uma possível influência de tóxicos dietéticos e ambientais (4).

Clinicamente a infecção com VHC pode apresentar-se como hepatite aguda ou infecção crónica. Cerca de dois terços dos indivíduos com hepatite aguda são assintomáticos ou apresentam sintomas ligeiros. O período de incubação pós-infecção é de cerca de 6 semanas de média (entre 2-12 semanas). A virémia sérica torna-se detectável por volta da segunda semana e os níveis de aminotransferases começam a elevar-se entre a segunda e oitava semana (atingindo valores de cerca de 10 a 30 vezes o valor normal). Os anticorpos anti-VHC tornam-se detectáveis cerca de 8 semanas pós exposição. Quando se trata de doença sintomática pode existir uma fase pré-ictérica, com cerca de 2 a 10 dias de evolução, caracterizada por náusea, desconforto abdominal, anorexia, astenia, período sub-febril. Podem ocorrer ainda sintomas extra-hepáticos, tais como artralgias, mialgias e exantemas (sintomas tipo *soro-like*). Após esta fase aparece então a coloração ictérica (em cerca de 25% dos casos), acompanhada de febre, colúria, dor no hipocôndrio direito, náuseas, anorexia e astenia. Ela

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

vai evoluindo durante cerca de 15 dias, esbatendo-se progressivamente após este período. Depois desta fase os valores de ARN-VHC no soro tendem a baixar e a desaparecer, tal como os valores das aminotransferases. No entanto nos doentes que evoluem para cronicidade estes marcadores voltam a subir (não atingindo no entanto os valores iniciais, e tendo o seu valor uma variação flutuante) após um período de normalidade contrastando com os indivíduos com hepatite auto limitada, nos quais estes valores se mantêm normais. Existe ainda outro grupo de doentes que apresenta doença crónica apesar dos valores de aminotransferases continuarem normais (9).

Define-se a HCC como a persistência de ARN-VHC no soro por mais de 6 meses após a infecção. A erradicação espontânea da doença ocorre essencialmente nos primeiros 6 meses da infecção, considerando-se que numa muito pequena percentagem dos casos ela possa ocorrer no primeiro ano. A infecção crónica é normalmente assintomática sendo que por vezes os doentes apresentam sintomatologia ligeira tal como fadiga, mialgias, artralgias, náuseas e perda de peso, sintomas que podem ser atribuídos a outras patologias concomitantes (por ex. depressão).

A história natural da infecção por VHC é portanto bastante variável. Admite-se que cerca de 55-80% dos infectados evolua para hepatite Crónica. Apesar disto há grandes variações dependendo da faixa etária em que se dá a infecção. Assim em doentes com idades mais baixas (crianças e adultos jovens) a eliminação espontânea do vírus ocorre em cerca de 10-45% dos casos e a evolução para cirrose ocorre em 2-4% dos infectados cronicamente num período de 20 anos. Em indivíduos mais velhos, a resolução espontânea da hepatite verifica-se em apenas 20% dos casos, sendo que cerca de 20-30% dos portadores de HCC evoluem para cirrose num período de 20 anos após infecção. Dentro deste último grupo existe uma taxa de descompensação hepática de 2-4% dos doentes por ano e a incidência de carcinoma hepatocelular (CHC) situa-se nos 1,4-6% por ano (10).

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

Existem várias vias de transmissão do VHC, sendo que a transmissão através da transfusão de sangue não testado e a partilha de seringas por parte de utilizadores de drogas endovenosas, são sem dúvida quem mais contribuiu para a expansão da infecção por VHC. Sabe-se hoje que a actividade sexual e a gravidez/parto são outras possíveis vias de disseminação do VHC.

Actualmente nos países desenvolvidos, a transmissão através do uso de drogas endovenosas é o principal meio de disseminação do vírus. Atinge sobretudo a faixa etária dos adultos jovens calculando-se que cerca de 60% de todas as novas infecções por VHC nos EUA tenham acontecido por este meio. Para isso contribuiu a elevada prevalência de infecção crónica na população toxicodependente, estimando-se que, ao fim de 5 anos de abuso de drogas por via endovenosa, cerca de 50 a 90% dos toxicodependentes tenha adquirido esta infecção (4). Tem sido também levantada a hipótese de existir uma relação entre a infecção por VHC e uso de cocaína por via nasal. Antes da descoberta do vírus em 1989 a transfusão de sangue e seus derivados era o principal meio de contaminação, tendo diminuído drasticamente a sua importância desde a implementação de medidas de controlo, apesar de ainda se manter como uma importante via de transmissão nos países em vias de desenvolvimento. A infecção através de órgãos transplantados é também bastante eficaz (taxas entre 30-80%), tendo no entanto diminuído desde a introdução de métodos de rastreio desta infecção nos bancos de órgãos (7). A transmissão por via sexual do VHC mostra-se bastante menos eficiente do que o vírus da imunodeficiência humana (VIH) ou o vírus da hepatite b (VHB). Há no entanto grupos de risco, assim, dados dos EUA, demonstram que a prevalência desta infecção é cerca de 6% em prostitutas, 4% em homossexuais e heterossexuais com vários parceiros e 2,7% parceiros monogâmicos de infectados com VHC. Há vários factores que influenciam a transmissão do vírus, tais como, virémia, integridade das mucosas e a existência de outras infecções genitais (4). A transmissão por via perinatal ronda o 5% em grávidas que apresentam positividade para ARN-VHC, aumentando para cerca de 20% se existir co-



Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

infecção com VIH. Apesar de o vírus aparecer nas secreções corporais, como leite e colostro, não está contra-indicada a amamentação materna em filhos de mães infectadas, nem existem recomendações específicas quanto ao tipo de parto que se deve realizar. Os profissionais de saúde podem contaminar-se através de picadas de agulhas. Há ainda outras vias de contaminação teoricamente possíveis mas com escassa evidência científica. São elas procedimentos tais como circuncisão, escarificação, tatuagens ou piercings. De referir que cerca de 10% dos infectados com VHC não evidenciam qualquer tipo de factor de risco para aquisição desta infecção (7).

## **Desenvolvimento**

### **Terapêutica da Hepatite C Crónica**

#### Evolução Histórica

Mesmo antes da descoberta do VHC por Choo em 1989, Hoofnagle descreve em 1986 o uso de interferão alfa (INF- $\alpha$ ) no tratamento da Hepatite não-A não-B. Desde aí foi demonstrada a evidência de melhorias bioquímicas e histológicas, bem como uma diminuição da replicação virica o que levou a *Food and Drug Administration* (FDA) a aprovar o uso de INF- $\alpha$  no tratamento da HCC em 1991 (1). O principal objectivo da terapêutica da HCC é a erradicação do vírus. O método usado para classificar essa erradicação é a resposta virológica sustentada (RVS), que se define como a indetectibilidade de ARN-VHC no soro 6 meses após o fim da terapêutica. Este tipo de terapêutica em monoterapia demonstrou reduzir as enzimas hepáticas e os níveis de ARN-VHC em cerca de 50-60% das pessoas tratadas e alcançar uma RVS em 6-15% dos doentes (11). No final da década de 1990 descobriu-se que o uso de ribavirina

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

(RBV) associado com INF- $\alpha$  tornava a terapêutica contra VHC mais eficaz, tendo sido aprovado o seu uso pela FDA em 1998. A utilização desta combinação demonstrou alcançar melhores valores de RVS, quando comparada com o uso de INF- $\alpha$  em monoterapia, alcançando valores na ordem 38.2% vs 12.9% no primeiro estudo randomizado e de 42.6% vs 20.9% no segundo estudo feito. As taxas de RVS variam bastante em função do genótipo infectante, estando na ordem dos 28 % para o genótipo 1 e de 66% para o genótipos 2 e 3 (12). A eficiência da molécula de INF- $\alpha$  é limitada devido a uma fraca estabilidade e a uma semivida curta, o que levou ao desenvolvimento de novas moléculas que permitissem colmatar estes pontos fracos. Assim foi acoplada a esta molécula uma outra de polietilenoglicol (PEG) que permitiu torna-la mais estável e ter uma semivida maior, diminuindo assim a variação dos seus níveis séricos e permitindo uma única toma semanal, ao contrário das três tomas que são necessárias com INF- $\alpha$ . Aos dois tipos de INF- $\alpha$  existentes, INF- $\alpha$  2a e INF- $\alpha$  2b, foi juntada uma molécula de PEG, criando duas moléculas igualmente eficazes e que alcançam RVS na ordem dos 45%. Estudos demonstram que a associação de PEG-INF- $\alpha$  2a ou PEG- INF- $\alpha$  2b com a RBV alcança taxas de RVS significativamente mais altas do que a terapêutica com INF- $\alpha$  mais RBV ou a terapêutica com INF- $\alpha$  em monoterapia (13). Os estudos randomizados que comparam o uso da associação de PEG- INF- $\alpha$  2b e RBV com a associação de INF- $\alpha$  e RBV mostram taxas de RVS de 53.6% vs 46,5%, e os que comparam PEG- INF- $\alpha$  2a mais RBV com INF- $\alpha$  mais RBV alcançam valores de RVS de 56.1% vs 43.9% (12). Actualmente a terapêutica aconselhada para o tratamento da HCC é o uso da combinação de PEG- INF- $\alpha$  (2a ou 2b) e RBV, variando a duração da terapêutica em função do genótipo infectante, sendo em regra de 24 semanas para os genótipos 2 e 3 e de 48 semanas para os genótipos 1 e 4. Os genótipos 5 e 6 são menos comuns, sendo aconselhado o uso de uma terapêutica semelhante á do genótipo 1.

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

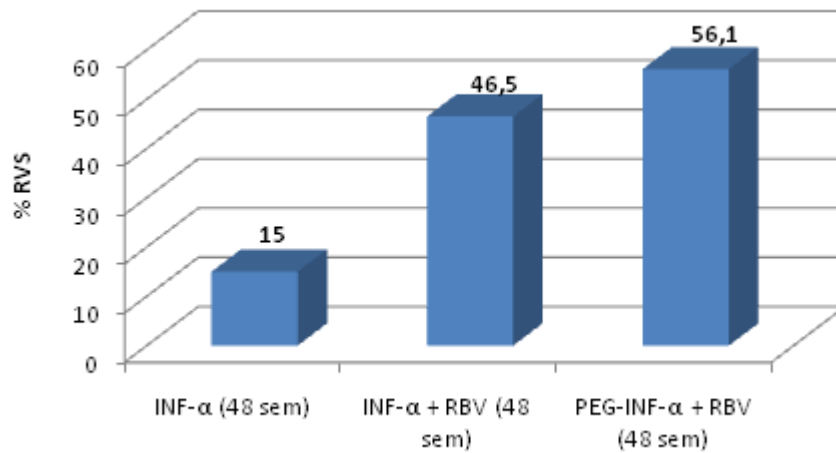


Ilustração 2 - Evolução da percentagem de RVS com diferentes combinações de fármacos (INF; INF + RBV; PEG-INF + RBV)

### Interferão

Existem neste momento vários tipos de moléculas de INF- $\alpha$  usados na terapêutica da hepatite C crónica e mais estão sobre desenvolvimento e investigação de maneira a tornar mais eficaz este tratamento.

O INF- $\alpha$  é uma citocina que apresenta uma função importante na resposta imunitária antivírica inata. Ela actua através da ligação a receptores celulares do sistema Janus Cinase, que por sua vez vão fosforilar as proteínas STAT 1 e STAT 2 (tradutores e activadores da transcrição intracelulares) que juntando-se ao factor regulador do interferão 9, formam um grande complexo intracelular, chamado *interferon-stimulated gene factor 3*. Este vai então deslocar-se para o núcleo da célula onde se liga ao *interferon-stimulated response element* no ácido desoxirribonucleico (ADN). Esta ligação vai provocar a transcrição de múltiplos *interferon-stimulated genes* (ISG), formando vários ARN mensageiro que codificam proteínas que alteram o metabolismo celular e interferem com a replicação viral, síntese proteica e montagem do vírus. Os factores que se pensa serem os mais importantes na inibição da replicação viral incluem a 2', 5' oligoadenilato sintetase que activa RNAses antivíricas, a adenosina desaminase específica de ARN, que codifica ARN viral e a proteína cinase R que

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

vai inactivar a proteína de translação do vírus. Isto provoca a inibição do complexo de replicação do VHC necessário para a formação de proteínas estruturais e não estruturais do vírus. Para além desta inibição vírica, o INF- $\alpha$  induz ainda a expressão de genes que estão envolvidos na resposta imunitária do hospedeiro, resultando na activação de células natural killer, maturação de células dendríticas, proliferação de linfócitos T de memória e prevenção da apoptose dos linfócitos T (14).

Da molécula inicial de INF- $\alpha$  -2a e -2b surgiram, através de bio-engenharia, as moléculas de PEG-INF- $\alpha$ - 2a e - 2b. A primeira destas moléculas resulta da ligação de uma cadeia ramificada de PEG com 40,000 daltons a molécula inicial de INF- $\alpha$  e a segunda da ligação de uma molécula linear de PEG com 12,000 daltons á mesma molécula. A diferença destas cadeias resulta num diferente volume de distribuição destas moléculas, e daí a necessidade de se dar 1,5 $\mu$ g/kg de PEG-INF- $\alpha$ -2b enquanto que a dose de PEG-INF- $\alpha$ -2a é fixa semanalmente em 180 $\mu$ g (7). A peguilação do INF- $\alpha$  confere a esta nova molécula uma melhor solubilidade, maior estabilidade perante alterações de temperatura, reduz a sua tendência para agregação, aumenta a sua estabilidade perante a degradação enzimática e diminui a sua imunogenicidade. Para além disto altera ainda os parâmetros farmacocinéticos, aumentando a tempo de semi-vida e diminuindo a sua clarence renal. Apesar de tudo isto mantém intactas as propriedades imunomodulatórias e antivíricas da molécula de INF- $\alpha$  original (15).

A resposta a terapêutica com INF- $\alpha$  faz-se segundo um modelo bifásico. Assim numa primeira fase (24- 48 após o início do tratamento) vai existir um rápido declínio do ARN-VHC. Esta fase mede a eficiência do INF- $\alpha$  na inibição da replicação vírica. Uma segunda fase ocorre mais tardiamente, de uma maneira mais lenta e apresenta variações inter-individuais. É determinada pela taxa de morte das células infectadas pelo VHC e pela

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

capacidade do INF- $\alpha$  em continuar a inibir a replicação do VHC. Esta fase parece ser mais rápida nos infectados com genótipo 2 do que nos infectados pelo genótipo 1 (1).

Existem novos tipos de interferão em investigação, nomeadamente Consensus interferão e Albuferão, as quais serão abordadas mais adiante neste trabalho.

### Ribavirina

A RBV é um análogo dos nucleosídeos administrado por via oral, com larga actividade contra patógenos virais. O seu mecanismo de acção específico contra o VHC não se encontra ainda totalmente esclarecido. Esta molécula parece actuar de duas formas sobre o VHC, uma directa impedindo a sua replicação e outra indirecta através da imunomodulação das defesas do hospedeiro. O seu mecanismo de acção directa consiste na inibição competitiva da enzima inosina monofosfato desidrogenase, interrompendo assim a síntese de monofosfato de guanosina, molécula que vai servir de substrato para a síntese de ARN pelo vírus (inibição da via de formação de nucleosídeos de novo). Ela parece também (através dos seus princípios activos fosfatos de ribavirina) inibir a polimerase vírica, impedindo a formação da nova cadeia negativa, e ainda parece capaz de provocar mutações no genoma viral quando incorporada por esta enzima no mesmo. Daqui se poderá compreender o seu efeito teratogénico em animais. O seu mecanismo indirecto de acção parece ser através da imunomodulação, favorecendo a transição do fenótipo Th2 para o Th1, que resulta na síntese de citocinas antivirais (INF e TNF) facilitando a eliminação do VHC (16). A RBV parece ter um efeito sinérgico com o INF- $\alpha$ , tendo contribuído para o aumento das taxas de RVS após a sua introdução. Em monoterapia ela baixa os níveis de enzimas hepáticas mas parece ter pouco efeito nos níveis séricos de ARN-VHC (17).

Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

### Orientações terapêuticas

O principal objectivo da terapêutica da HCC é a erradicação do vírus. Como já foi referido, isto é conseguido através da obtenção de uma RVS. Isto permite que a longo prazo se obtenha uma diminuição da morbilidade e da mortalidade, relacionadas com a evolução para cirrose e CHC provocado por este vírus. Alguns estudos demonstram que cerca de 99% dos doentes que atingiram RVS, continuavam com níveis séricos indetectáveis de ARN-VHC aos 5 anos (7). Esta terapêutica visa também a estabilização ou regressão das lesões histológicas provocadas pelo VHC, e a melhoria sintomática.

São candidatos a terapêutica, todos os doentes adultos com HCC que apresentem níveis detectáveis de ARN-VHC no soro, elevação das aminotransferases, evidência histológica de doença hepática progressiva (fibrose das áreas portais ou em ponte – corresponde a scores F2 ou superiores na escala de Metavir, Knodell ou Ishak) e que não apresentem contra indicações a terapêutica. Doentes sem elevação das aminotransferases ou com níveis séricos baixos, não devem ser excluídos do tratamento, devendo o seu caso ser avaliado individualmente. As contra-indicações absolutas a terapêutica com INF- $\alpha$  e RBV são a gravidez, a amamentação ao peito e alergia a qualquer destes dois medicamentos. Há ainda contra-indicações relativas, tais como, existência de doença hepática descompensada, patologia neuropsiquiátrica grave, doença coronária ou cerebrovascular, insuficiência renal e transplantados. História de abuso crónico de álcool pode também ser factor de exclusão desta terapêutica (14).

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

**Tabela 1- Terapêutica da HCC (14)**

Genótipo	Dose de PEG-INF	Dose RBV	Duração	Interrupção do tratamento
1,4,5 ou 6	PEG-INF $\alpha$ - 2a - 180 $\mu$ g por semana ou	1000mg por dia ( $\leq$ 75kg) ou	48 Semanas	Não respondedores: às 12 semanas se não atingir RVI; às 24 semanas se ARN-VHC detectáveis
	PEG-INF $\alpha$ -2B – 1,5 $\mu$ g/ kg por semana	1200 mg por dia ( $>$ 75kg)		Super respondedores: às 24 semanas se RVR e baixa carga viral inicial ( $<$ 600,000 IU/ml)
2 ou 3	PEG-INF $\alpha$ - 2a - 180 $\mu$ g por semana ou PEG-INF $\alpha$ -2B – 1,5 $\mu$ g/ kg por semana	800mg por dia	24 Semanas	Não respondedores: pouco comum Super respondedores: às 12-16 semanas se RVR

RVR = Resposta virológica rápida (ARN-VHC indetectável à 4ª semana)

RVI = Resposta virológica inicial (diminuição de 2 log do ARN-VHC inicial à 12ª semana)

Em geral pode-se considerar a existência de três tipos de respostas possíveis á terapêuticas da HCC: aqueles doentes que alcançam RVS, aqueles em que há uma diminuição transitória dos níveis de ARN-VHC do soro havendo depois uma recidiva, e por fim aqueles que não respondem ao tratamento. Podem considerar-se diversos factores que vão influenciar o prognóstico e a probabilidade de alcançar RVS. Há então que ter em conta as características do vírus, os factores derivados do hospedeiro, os factores dependentes da terapêutica e por fim alguns factores genéricos.

Dos factores dependentes do vírus aquele que mais importância tem para o prognóstico é sem dúvida o genótipo do vírus infectante. Assim pacientes infectados com genótipo 1 tem uma taxa de RVS rondando os 42-46%, enquanto que aqueles que se encontram infectados com os genótipos 2 ou 3 apresentam taxa de RVS na ordem dos 76-82% (2). Este é um dos factores mais importantes na previsão de alcançar RVS. A variabilidade genética apresentada pelo VHC, parece também influenciar a probabilidade de cura. Assim, os indivíduos portadores de determinadas *quasispecies* VHC, parecem ter maior resistência a terapêutica com INF- $\alpha$ . Essa

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

resistência parece estar relacionada, como já foi referido, com a variabilidade genética existente na região codificante da proteína NS5A.

Dos factores derivados do hospedeiro salienta-se que a existência de uma baixa carga viral (< 600,000 UI/mL) está associada a uma maior taxa de RVS (9). Outro factor que parece influenciar a probabilidade de alcançar RVS é a etnia do doente. Assim caucasianos americanos mostram melhores taxas de RVS do que Afro-Americanos. A idade do doente e a obesidade parecem também estar relacionadas com menores taxas de RVS. Além disto a existência de esteatose hepática ou fibrose, bem como a existência de elevados níveis de ferro hepáticos apresentam também uma menor probabilidade de alcançar RVS. O sexo parece também influenciar o prognóstico da terapêutica, com os indivíduos do sexo feminino a apresentarem maiores taxas de resposta. Foi descoberta recentemente uma proteína, *Interferon- $\gamma$ -inducible protein* (IP-10), que está relacionada com a resposta do hospedeiro a terapêutica com INF. A expressão intra-hepática desta proteína está associada com a inflamação hepática, tendo sido demonstrado por estudos recentes que um nível baixo de IP-10 se correlaciona com uma maior taxa de RVS (11).

O tipo de tratamento utilizado vai também influenciar o resultado final da mesma. Assim, como já foi referido, a taxa de RVS está dependente do tipo de INF utilizado, da dose de INF e RBV administradas e da duração do esquema terapêutico.

Nos factores genéricos salientam-se essencialmente quatro. Os níveis da carga vírica à 4ª e 12ª semana de tratamento estão relacionados com a probabilidade de alcançar RVS. Também a adesão à terapêutica e a existência de co-infecções VHC-VIH, se mostram susceptíveis de alterar a taxa de sucesso do tratamento. A existência de níveis indetectáveis de ARN-VHC á 4ª semana de tratamento (resposta virológica rápida - RVR) foi recentemente relacionada com uma maior probabilidade de alcançar RVS. Os doentes que alcançam RVR, também chamados super respondedores, poderão ver a duração da terapêutica reduzida. Assim alguns



## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

estudos apontam para a redução de 48 para 24 semanas em doentes com VHC genótipo 1 que alcançaram RVR e de 24 para 12 ou 16 semanas em portadores de genótipos 2 ou 3 que alcançaram RVR. Um factor desde já importante para a decisão da continuação ou não do tratamento é a existência ou não de resposta virológica inicial (RVI), que é definida como a redução em pelo menos 2-logs dos níveis de ARN-VHC iniciais à 12ª semana de tratamento. Este valor demonstrou ter um excelente valor preditivo negativo nos diversos estudos feitos, mostrando que pelo menos 97% dos doentes que não alcançavam RVI não iam atingir RVS, enquanto que 67% daqueles que apresentavam RVI atingiam RVS (11). Assim, este valor é utilizado hoje em dia para decidir a interrupção da terapêutica nos doentes com genótipo 1 que não atinjam RVI.

Um dos principais factores que levam à não obtenção dos objectivos terapêuticos é a não adesão à terapêutica por parte do doente. Há várias formas de explicar esse abandono. De realçar o facto de grande parte dos candidatos a esta terapêutica pertencerem a grupos de risco, tais como toxicodependentes e alcoólicos, o que leva a que seja difícil conseguir o seu total compromisso para com o tratamento. Outra razão que leva a um abandono precoce da terapêutica são os muitos efeitos adversos que ela provoca, o que leva á interrupção da mesma, quer por ordem médica, quer por vontade do próprio doente. McHutchison afirmou que a adesão é essencial para o sucesso terapêutico, e criou a regra que ficou conhecida como a regra dos 80:80:80. Esta diz que para alcançar taxas de RVS significativas o tratamento deve ser feito com pelo menos 80% da dose inicial prevista de INF, com 80% da dose prevista de RBV e por pelo menos 80% do tempo inicialmente previsto (18). Outros estudos demonstraram que a taxa de resposta é mais complexa que isto, mostrando que uma redução da dose de PEG-INF nas primeiras 20 semanas baixa a eliminação viral e contribui para uma taxa de RVS mais baixa do que a administração de uma dose menor na segunda parte do tratamento ou do que a redução da dose de RBV (11).

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

O tratamento com qualquer tipo de INF e RBV tem inúmeros efeitos adversos e muitos deles podem levar à redução da dose do medicamento ou mesmo à interrupção do tratamento pelo médico. Os principais efeitos adversos do PEG-INF são as mialgias e a fadiga. Particularmente difíceis de tratar são as perturbações neuropsiquiátricas que este fármaco pode provocar, nomeadamente a depressão, ansiedade, irritabilidade, distúrbios do sono e dificuldade de concentração. Estas são causa frequente de abandono da terapêutica e podem ser atenuadas com recurso a medicamentos anti-depressivos ou ansiolíticos. O síndrome pseudogripal pode ocorrer poucas horas após a injeção de PEG-INF, e é caracterizado por febre, cefaleias, mialgias, artralgiias, podendo ser controlado com recurso a anti-inflamatórios. O PEG-INF pode ainda provocar desconforto abdominal, náuseas e vómitos. Além disto a provoca ainda pancitopenia (anemia, trombocitopenia e neutropenia) a médio-longo prazo, o que atendendo a propensão da RBV em provocar anemia hemolítica, pode levar à redução da dose ou mesmo à interrupção da terapêutica. Devem, por esta razão, ser controlados estes parâmetros regularmente, durante o tempo que decorre o tratamento. A anemia pode ser controlada através de transfusões ou com recurso a injeções de eritropoetina. Na tentativa de manter as doses adequadas de INF- $\alpha$ , poderá justificar-se o recurso a factor de crescimento granulocítico em caso de neutropenia grave. Para além de todos estes efeitos, existe ainda uma maior tendência nas pessoas sujeitas a este tratamento a desenvolverem patologias auto-imunes, sendo a tiroidite auto-imune a mais comum, e devendo portanto ser despistada ao longo do tratamento. Outros efeitos adversos são especificados na tabela 2.

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

Tabela 2 - Efeitos adversos da terapia com INF e RBV (14)

Frequência	Efeitos Adversos
<b>Comuns (&gt; 5% dos doentes tratados)</b>	Mal-estar, fadiga, cefaleias, mialgias, artralgias, náusea, anorexia, desconforto abdominal, diarreia Ansiedade, depressão, irritabilidade, distúrbios de sono, dificuldades de concentração, dificuldades de memória Alopécia, rash, fotossensibilidade, prurido, congestão nasal Trombocitopenia, neutropenia, hemólise, anemia Eritrema local, dor ou abscesso no local da injeção
<b>Menos Frequentes (1-5% dos doentes tratados)</b>	Depressão profunda e psicose Abuso de substâncias ou recaída no abuso de álcool Infecção bacteriana severa Produção de auto anticorpos
<b>Raros (&lt; 1% dos doentes tratados)</b>	Psicose aguda, ataques de pânico, ideação suicida, tentativa de suicídio Perda de audição, perda de visão, hemorragia na retina, neuropatia, convulsões, confusão, coma Insuficiência renal, cardíaca e pulmonar Doenças auto-imunes Enfarte do miocárdio, angina de peito, AVC

A RBV tem ainda efeitos teratogénicos pelo que é necessário o uso de métodos de contraceção eficazes, tanto nos homens como nas mulheres sob-terapêutica, estando contraindicada a gravidez durante e até 6 meses após o fim do tratamento. A mulher a fazer tratamento da HCC não deverá amamentar.

A redução da dose é necessária em cerca de 30-40% dos doentes sujeitos a tratamentos de 48 semanas e a interrupção do mesmo ocorre em cerca de 20% (14). Os critérios para estas atitudes terapêuticas encontram-se na tabela 2 (2).

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

Tabela 3 - Critérios para redução de dose ou interrupção do tratamento (2).

	Redução de dose	Interrupção
<b>RBV</b>	Reduzir em 200-400 mg/dia	
	Hemoglobina $\leq 10$ g/dl	Hemoglobina $\leq 8,5$ g/dl
<b>INF</b>	Reduzir em 25-50%	
	Leucócitos $\leq 1,5 \times 10^9/L$	Leucócitos $< 1,0 \times 10^9/L$
	Neutrófilos $\leq 0,75 \times 10^9/L$	Neutrófilos $< 0,5 \times 10^9/L$
	Plaquetas $\leq 50-80 \times 10^9/L$	Plaquetas $< 25-50 \times 10^9/L$

Há alguns grupos de doentes que necessitam um tratamento diferenciado, tais como os que recidivaram, os não respondedores ao tratamento inicial ou os co-infectados com o VIH-VHC. Define-se como recidiva aqueles doentes que obtiveram resposta ao fim do tratamento, sem no entanto ter alcançado RVS. Não respondedores são aqueles doentes que não alcançaram RVI e que também não conseguiram negatividade para ARN-VHC às 24 semanas de tratamento. Existe alguma controvérsia sobre qual o regime ideal para qualquer destes doentes e quais os que devem ou não ser submetidos a novo tratamento. As taxas de RVS nestes doentes dependem de alguns factores tais como qual a terapia previa a que foram sujeitos, qual a resposta que obtiveram a essa mesma terapêutica e qual a tolerância e adesão a esse regime. Há ainda outros parâmetros a ter em conta como o genótipo infectante, a existência de doença hepática severa e outros factores preditores de resposta. Assim verificam-se taxas mais altas de RVS em doentes cujo primeiro tratamento foi com INF- $\alpha$  em monoterapia, nos infectados com genótipo 2 ou 3, naqueles com uma relação AST/ALT mais baixa e nos doentes sem doença hepática avançada. De referir que o re-tratamento com PEG-INF  $\alpha$  e RBV é mais eficaz nos doentes que sofreram recidiva após término da primeira terapêutica do que naqueles que não responderam à mesma. Nos doentes que não responderam à terapêutica com INF  $\alpha$  e RBV, a probabilidade de alcançarem RVS com um re-tratamento com PEG-INF  $\alpha$  e RBV é de 10-15% no caso dos não respondedores e de 47%

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

nos que recidivaram. Actualmente aconselha-se a uma avaliação individualizada de cada doente, podendo fazer-se novo tratamento em indivíduos não respondedores que tenham falhado o primeiro tratamento devido á não adesão ou à redução das doses devido aos efeitos secundários dos medicamentos. Doentes que sofreram recidivas e que apresentem estádios avançados de fibrose hepática ou co-morbilidades associadas ao VHC devem também ser sujeitos a novo ciclo de tratamento com PEG-INF  $\alpha$  e RBV (1).

O número de doentes com VIH que se encontram co-infectados com VHC é bastante alto, situando-se na ordem dos 25-30% na Europa e EUA. Nestes pacientes a progressão da doença hepática ocorre mais rapidamente, sendo portanto importante trata-los precocemente. O tratamento recomendado é o tratamento standard com PEG-INF  $\alpha$  e RBV, sendo possível alcançar RVS em cerca de 14-24% dos doentes infectados com genótipo 1 ou 4, e 44-73% em doentes com VHC genótipo 2 ou 3. Se a infecção por VIH não estiver estável (contagem de CD4 <200,000 células/mm), deve ser instituída primeiro a terapêutica antiretrovítica de alta eficácia e só depois feito o tratamento para o VHC (quando os valores de linfócitos T CD4 se encontrarem acima do valor referido anteriormente) (19).

## **Optimização dos esquemas terapêuticos actuais**

### Novos esquemas terapêuticos

Uma das alternativas para melhorar as taxas de sucesso para o tratamento da HCC é a individualização e optimização dos esquemas terapêuticos já existentes. Assim poderá ser aumentada a adesão ao tratamento, através da redução dos efeitos adversos, e poderá ser reduzido o número de recidivas ou de não respondedores.

Vários estudos foram realizados no sentido de reduzir o tempo de tratamento dos infectados por VHC genótipos 2 ou 3 para 12, 14 ou 16 semanas de tratamento em vez das habituais 24

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

semanas. Num estudo multicêntrico feito na Alemanha, os pacientes infectados por estes genótipos foram divididos em vários grupos. Os doentes foram tratados com PEG-INF  $\alpha$ - 2a (180  $\mu$ g/semana) e RBV (1000-1200 mg/dia – consoante o peso corporal). Neste estudo foi calculado o ARN-VHC à 4<sup>a</sup> semana de tratamento, sendo os doentes então divididos em três grupos: se ARN-VHC <600 IU/L eram aleatoriamente colocados num grupo tratado por 24 semanas ou noutra tratado durante 16 semanas. Caso tenham valores de ARN-VHC >600 IU/L eram tratados invariavelmente durante 24 semanas. Os resultados deste estudo demonstraram que os pacientes tratados 16 semanas apresentavam resultados equivalentes aos tratados 24 semanas, alcançando taxas de RVS na ordem dos 82% e 80% respectivamente. Além disso apresentavam taxas de efeitos adversos menores que os tratados durante 24 semanas (20). Este conceito de redução do tempo de tratamento é ainda defendido noutros dois estudos. Num estudo não controlado na Noruega foi comparada a eficácia do tratamento com PEG-INF  $\alpha$ - 2b (1,5  $\mu$ g/semana) mais RBV (800-1400 mg - dependendo do peso corporal) durante 14 semanas em doentes que tinham atingido RVR (definida como: níveis de ARN-VHC indetectáveis às 4 e 8 semanas de tratamento) e verificaram que 78% (95 de 122 doentes) alcançaram RVR e que 85 de 95 doentes atingiram RVS (21). Num estudo multicêntrico italiano foram obtidas taxas de RVS de 89% sobretudo em doentes infectados com VHC genótipo 2 que receberam PEG-INF  $\alpha$ -2b (1,0  $\mu$ g/semana) mais RBV (1000-1200 mg/dia – de acordo com o peso) durante 12 semanas, caso tenham atingido valores indetectáveis de ARN-VHC às 4 semanas (22). No entanto as taxas de recidiva em doentes sujeitos a tratamentos mais curtos parecem ser maiores, e os doentes infectados com genótipo 2 parecem responder melhor do que os infectados com genótipo 3 (principalmente aqueles que apresentam níveis de ARN-VHC >400-800 IU/L – que parecem beneficiar com tratamento mais prolongado), pelo que a decisão de reduzir o tempo de terapêutica deve ser tomada em função do doente individualmente (7).

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

Nos pacientes infectados com VHC genótipo 1 a abordagem é oposta e tem havido estudos no sentido de prolongar a terapêutica até às 72 semanas. Num estudo multicêntrico na Alemanha doentes com VHC genótipo 1 foram divididos em dois grupos aleatoriamente e tratados com PEG-INF  $\alpha$ -2a (180 $\mu$ g/semana) mais RBV (800mg/dia). Uns foram tratados durante 48 semanas e o outro durante 72 semanas. No geral não foram encontradas diferenças significativas nas taxas de RVS, tendo o grupo com tratamento mais curto obtido taxas na ordem dos 63% e o mais longo na ordem dos 54%. Houve no entanto um grupo de doentes que beneficiou claramente com o aumento da duração do tratamento. Em doentes que apresentavam positividade para ARN-VHC às 12 semanas e virémia negativa às 24 semanas (também denominados respondedores lentos) as taxas de RVS foram de 29% naqueles tratados durante 72 semanas vs 17% nos tratados por 48 semanas, verificando-se ainda nestes doentes uma diminuição no número de recidivas (23). Esta expansão do tratamento parece no entanto levar também a uma maior taxa de abandono da terapêutica. Outros estudos parecem corroborar esta hipótese de os respondedores lentos beneficiarem com a extensão da duração do tratamento (24). Num outro tipo de abordagem há estudos que demonstram a possibilidade de reduzir o tratamento de doentes VHC genótipo 1 para 24 semanas, no caso de eles apresentarem baixa carga viral inicial (<600,000 IU/ml) e RVR a 4<sup>a</sup> semana (25).

O aumento da dose de RBV tem sido referido por alguns autores como uma maneira de diminuir as taxas de recidiva. Um estudo utilizou doses mais altas de RBV (13.3mg/kg) e PEG-INF  $\alpha$ -2b (1,5 $\mu$ g/kg por semana) em doentes com VHC genótipo 1 conseguindo reduzir a taxa de recidivas de 43% para cerca de 19%. No entanto a toxicidade da RBV é um obstáculo bastante grande para este tipo de abordagem terapêutica (25).

O tratamento combinado com RBV e INF provoca uma diminuição de cerca de  $\geq 3$  g/dl de hemoglobina em aproximadamente 54% dos doentes nas primeiras 12 semanas de tratamento, sendo uma das principais causas de redução de dose e interrupção terapêutica, bem como de

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

agravamento de outros efeitos adversos como a dispneia e a fadiga. Assim, vários estudos têm sido feitos no sentido de utilizar eritropoetina (EPO) para melhorar a adesão ao tratamento. Os resultados mostram que o uso deste factor de crescimento aumenta o número de doentes que conseguiram manter doses superiores a 800mg/dia de RBV durante o tratamento (54% no grupo a receber terapêutica standard vs 83% no grupo a receber EPO). Além disto o tratamento com EPO parece aumentar a qualidade de vida dos doentes tratados para HCC. Outro tipo de factor de crescimento usado para prevenir possíveis efeitos secundários da terapêutica com INF é o factor de crescimento de granulócitos e monócitos, usado no tratamento da neutropenia. A terapêutica com INF provoca a diminuição de 30% a 50% dos valores basais de linfócitos e neutrófilos, sendo esta uma razão comum para a diminuição da dose deste medicamento. No entanto apesar desta diminuição de neutrófilos são raras as infecções que aparecem nos pacientes a tratados para HCC e por isso discute-se a real necessidade de submeter estes pacientes a mais um fármaco (3).

### Novos Interferões

Uma das vias possíveis para abordar o tratamento da HCC é a criação de novas moléculas de INF e RBV que permitam colmatar os défices das moléculas originais, e assim alcançar maiores taxas de sucesso terapêutico. Várias moléculas novas de INF estão já em investigação.

Consensus interferão (CINF) é uma molécula recombinante de INF tipo 1 contendo 166 aa. Foi sintetizada a partir da análise dos vários INF  $\alpha$  naturais, colocando em cada posição os aa mais comuns para essa mesma posição. Esta molécula demonstrou em estudos *in vitro* uma actividade biológica cerca de 5-10 vezes superior ao INF standard. Apesar desta vantagem, estudos posteriores mostraram apenas pequenas diferenças de eficácia quando compararam CINF ao INF em monoterapia (26). No entanto investigações mais recentes verificaram que a



## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

probabilidade de alcançar RVS era maior em doentes tratados com CINF e RBV do que naqueles em que se usou INF standard mais RBV (7). Um outro estudo que pretendia comparar a resposta de doentes não respondedores ao tratamento com INF e RBV, mostrou vantagem no re-tratamento com CINF e RBV vs INF e RBV, atingindo níveis de RVS de 30% e 22% respectivamente (27). No entanto novos ensaios clínicos parecem indicar que o tratamento com CINF e RBV não é mais eficaz que o tratamento actualmente recomendado com PEG-INF e RBV. Um outro estudo (DIRECT) procurava perceber se havia melhores resultados usando CINF mais RBV em não respondedores (genótipo 1) em relação à terapêutica com PEG-INF e RBV. Apesar de dados intermédios serem animadores, no final a probabilidade de alcançar RVS nos doentes sujeitos a este tratamento foi apenas de 10% (28). Apesar de já estar aprovada pela FDA, o principal ponto fraco desta molécula parece ser a sua curta semi-vida plasmática, levando à necessidade de ser administrada diariamente, podendo ser um factor desmotivador e de abandono da terapêutica por parte dos doentes, além de não apresentar uma superioridade indiscutível face à terapêutica aconselhada actualmente. Há no entanto falta de estudos que comparem directamente o tratamento combinado de CINF e RBV com o tratamento com PEG-INF e RBV (29).

Albuferão é uma molécula conseguida através da ligação de uma molécula de INF  $\alpha$ -2b a uma outra de albumina humana, permitindo assim aumentar a semi-vida plasmática do INF- $\alpha$ -2b. Nos ensaios clínicos iniciais este composto mostrou ser seguro e ter uma semi-vida de cerca de 141 horas, o que permite concentrações séricas mais estáveis, podendo ser administrada de 2 em 2 ou de 4 em 4 semanas (11). Um estudo de fase II envolvendo 458 doentes genótipo 1 não tratados, comparou a eficácia do tratamento com albuferão em diferentes doses combinada com RBV com o tratamento aconselhado com PEG-INF e RBV. Os níveis de RVS alcançados foram de 58,5% e 55,5% para doentes tratados com albuferão 900mg e 1200mg respectivamente, que receberam o fármaco de 2 em 2 semanas. Outro grupo foi tratado com

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

albuferão 1200mg, uma vez cada 4 semanas, alcançou valores de RVS de 50,9% em comparação com os 57,9 % do grupo controlo (tratado com PEG-INF $\alpha$ -2a 180  $\mu$ g/semana e RBV), como se pode observar melhor no gráfico 2 (28). Outro estudo envolvendo 115 doentes (genótipo 1, não respondedores a terapêutica com PEG-INF $\alpha$  e RBV) avaliou a eficácia do tratamento da combinação de RBV e albuferão (900-1200mg/ 2 semanas) durante 48 ou 72 semanas de tratamento. A RVS alcançada no total foi de 17,4%, sendo superior aos estudos feitos de re-tratamento com PEG-INF $\alpha$  e RBV durante 48 semanas, e semelhante aos feitos com estes mesmos fármacos durante 72 semanas (7). Esta molécula mostrou-se segura com a taxa de efeitos adversos a ser comparável com aquela alcançada com o tratamento habitual, e com menor taxa de desenvolvimento de anti-corpos anti-INF (3% vs 19%) (28). Em geral o tratamento com albuferão e RBV parece alcançar RVS sobreponíveis aquelas conseguidas com o tratamento com PEG-INF e RBV, tanto para o genótipo 1 como para os genótipos 2 ou 3. Mais estudos são no entanto necessários para melhor caracterizar a utilidade deste fármaco no futuro.

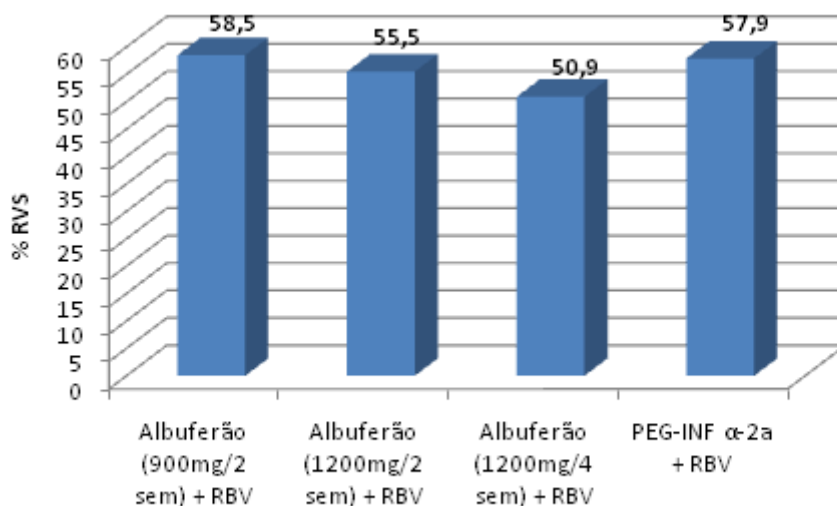


Ilustração 3 - Percentagem de RVS alcançada com diferentes doses de Albuferão + RBV e PEG-INF  $\alpha$ -2a + RBV

Interferão ómega (INF- $\omega$ ) é um novo tipo de interferão que é em 60% homólogo ao INF- $\alpha$  e em 30% ao INF- $\beta$ , tendo sido pensado para uma distribuição contínua através de um

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

dispositivo implantado. Num estudo feito com doentes genótipo 1 não tratados, foi usado INF- $\omega$  (25 $\mu$ g/dia) mais RBV e foram alcançados valores de negatividade de ARN-VHC de 36% às 12 semanas após fim do tratamento (durante 48 semanas), comparados com apenas 6% com INF- $\omega$  em monoterapia. Este fármaco mostrou ter um bom perfil de tolerância (30).

Locterão é uma nova formulação recombinante de INF- $\alpha$ -2b que permite níveis plasmáticos mais estáveis de INF- $\alpha$ , possibilitando a sua administração a cada 2 semanas. Num estudo de fase II foi usada a combinação de locterão (doses de 160, 320, 480 e 640 $\mu$ g/ 2semanas) e RBV durante 14 semanas em doentes não tratados infectados por VHC genótipo 1. A actividade antivírica mostrou-se dependente da dose, e mostrou, nas doses mais altas, taxas de RVR e RVI semelhantes ao tratamento standard com PEG-INF e RBV. Os efeitos adversos foram equivalentes aos obtidos por esta terapêutica. Um estudo fase IIb teve início recentemente na Europa e EUA (SELECT-2) (7).

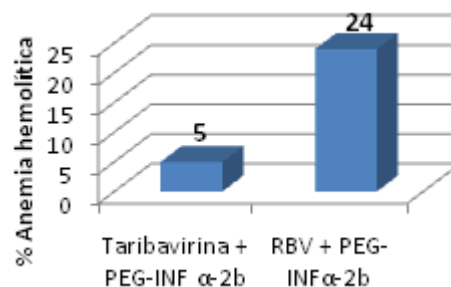
Beleroferão é uma variante do INF- $\alpha$  com uma mutação num único ponto que diminui a sensibilidade desta molécula à degradação pelas proteases intestinais, permitindo a sua administração oral. Está neste momento sob investigação no sentido de verificar a sua eficácia e segurança (7).

### Novas ribavirinas

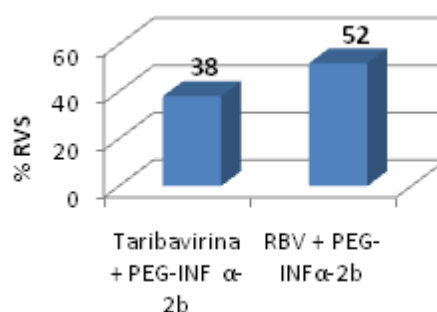
Taribavirina é uma pró-droga da RBV que foi desenhada para evitar os fenómenos de anemia hemolítica, a principal causa de diminuição de dose e interrupção da terapêutica. Estudos de farmacocinética demonstraram que esta nova molécula era rapidamente absorvida e convertida em RBV no fígado, apresentando um bom perfil de segurança. Um ensaio clínico de fase III comparou a combinação de taribavirina (600mg/ 2 vezes por dia) e PEG-INF  $\alpha$  -2b com o tratamento com este mesmo PEG-INF e RBV (VISER-1) em doentes não tratados. Pode então verificar-se que os doentes tratados com esta nova substância tinham uma taxa de

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

anemia hemolítica significativamente mais baixa que os tratados com RBV (5% vs 24%), tendo no entanto níveis de RVS mais baixos que os sujeitos ao tratamento com a molécula original (38% vs 52%). Um segundo estudo (VISER-2) desenhado nos mesmos modos deste, usou PEG-INF- $\alpha$ -2b em combinação com taribavirina (600mg/ 2 x por dia) obtendo resultados semelhantes ao do primeiro (26). Uma análise retrospectiva dos dados verificou que a exposição a taribavirina em doses superiores a 18mg/kg estava associada a um aumento significativo da eficácia do tratamento (RVS de 52%), semelhante ao obtido usando RBV doseada segundo o peso do doente, e uma taxa de anemia de apenas 7%. Outra análise retrospectiva dos dados existentes verificou ainda que doentes com RVR atingiam taxas de RVS na ordem dos 90%, e que aqueles que eram respondedores lentos tinham maior probabilidade de atingir RVS usando o tratamento a base de taribavirina do que o standard a base de RBV (63% vs 36%) (31). Está a decorrer um ensaio multicêntrico com o objectivo de comparar o tratamento com taribavirina em doses mais altas com o tratamento à base de RBV.



**Ilustração 4 - Percentagem de casos de anemia hemolítica com tratamento com Taribavirina + PEG-INF  $\alpha$  2b vs RBV + PEG-INF  $\alpha$  2b (VISER-1)**



**Ilustração 5 - Percentagem de RVS com tratamento com Taribavirina + PEG-INF  $\alpha$  2b vs RBV + PEG-INF  $\alpha$  2b (VISER-1)**

Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

### Inibidores da inosina monofosfato desidrogenase

Merimepodib (VX-497) é um inibidor oral competitivo de ambas as isoformas da inosina monofosfato desidrogenase. Esta molécula mostrou ser activa contra vários vírus de ADN e ARN (16). No entanto foi descoberto que este fármaco em monoterapia poderia aumentar a replicação vírica, devido à inibição da activação das células T, e que não apresentava vantagens quando associado ao INF em relação ao tratamento com este ultimo em monoterapia, em doentes não tratados (28). Apesar de parecer prometedora nos estudos de primeira fase quando usado em associação com RBV e INF em não respondedores, resultados recentes não corroboraram estas primeiras expectativas (11).

Outros inibidores da inosina monofosfato desidrogenase foram testados. O imunossupressor micofenolato de mofetil parece ter alguma actividade antiviral, podendo ser usado em doentes transplantados com HCC. Outro imunossupressor que parece ter alguma actividade contra o VHC é a mizoribina (16).

### **Fármacos antivirais específicos**

O conhecimento do ciclo de vida do VHC e da sua estrutura permitiram o desenvolvimento de novos fármacos, que visam alvos específicos deste vírus. Há vários mecanismos onde se tentado actuar de maneira a controlar a infecção por VHC. Pode considerar-se sobretudo três diferentes fases passíveis de servir como alvos para estes novos fármacos: o mecanismo de entrada na célula do hospedeiro, os mecanismos intracelulares do VHC e através da imunomodulação da resposta antiviral do hospedeiro. Os fármacos que actuam a nível dos processos intracelulares do ciclo de vida do VHC são conhecidos pela sua sigla inglesa STAT-C (*specifically target antiviral therapy for Hepatitis C*) e incluem os inibidores da ligação ao ribossoma (IRES), os inibidores da protease NS3/NS4A, os inibidores da

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

polimerase NS5B (análogos dos nucleosídeos e não análogos dos nucleosídeos), inibidores da proteína NS5A e inibidores das proteínas do hospedeiro. Este tipo de abordagem tem merecido destaque no seio da comunidade científica, no que diz respeito a uma nova maneira de actuar contra o VHC, estando a decorrer diversos estudos sobre várias moléculas para testar a sua eficácia, segurança e utilidade como novas armas terapêuticas contra esta infecção.

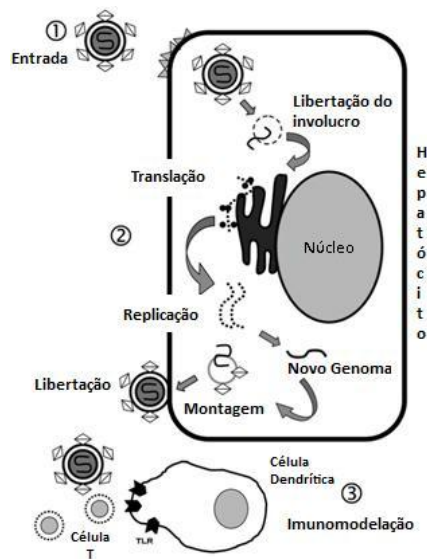


Ilustração 6 - Mecanismo de actuação dos fármacos antivirais específicos (ilustração adaptada) (1)

### Inibidores da entrada na célula

O primeiro passo para que o VHC possa provocar infecção nos hepatócitos, passa pela entrada para o interior dos mesmos. Para isso o VHC precisa de se ligar aos receptores celulares CD 81 e *scavenger receptor class B type 1* (SR-B1), que vão permitir que o VHC entre na célula por endocitose (1). Outras moléculas tais como o receptor LDL, glicosaminoglicanos e outras moléculas de adesão intracelulares foram relacionadas com este processo de entrada do VHC (28). Estas estruturas da célula do hospedeiro vão interagir com as proteínas estruturais E1 e E2 do VHC. Têm sido feitas várias tentativas no sentido de criar anticorpos que bloqueiam

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

estas proteínas víricas, impedindo assim a ligação do vírus á célula do hospedeiro. Uma imunoglobulina humana policlonal (Civacir) está a ser estudada encontrando-se a decorrer um estudo fase II que visa esclarecer a eficácia e segurança desta molécula no sentido de prevenir a re-infecção por VHC em transplantados (1). Outras imunoglobulinas monoclonais (HCV-AB 68 e HCV-AB 65) que se ligam a E2 encontram-se também sob investigação (28).

### Inibidores das proteínas de translação

Como já foi referido o VHC contem um local específico na região terminal 5' (IRES) que lhe permite ligar-se à subunidade 40S do ribossoma da célula do hospedeiro para se dar a translação. Existem vários fármacos que tentam impedir esta ligação, podendo considerar-se três tipos de fármacos, consoante o seu mecanismo de acção.

Inibidores da IRES, como o VGX-410C, actuam ligando-se ao IRES da cadeia de ARN do VHC, impedindo a sua ligação com o ribossoma, e conseqüente translação. Esta molécula foi abandonada devido a sua insuficiente acção antivírica nos ensaios clínicos de fase II (7).

OS oligonucleotidos *antisense* são pequenas cadeias lineares de ARN ou ADN que são complementares com uma porção específica de ARN, impedindo a sua sequente translação. Foram criados algumas cadeias de oligonucleotidos *antisense* específicos contra a região 5'-UTR, uma região pouco variável do VHC. O ISIS-1483 mostrou eficácia *in vitro*, mas acabou por ser abandonado devido á pouca actividade antivírica demonstrada em estudos de fase II e à elevação dos níveis de aminotransferases. Outra molécula, o AVI-4065, demonstrou também eficácia contra VHC *in vitro* e modelos animais, estando a decorrer mais estudos (28).

Ribozimas são uma classe de enzimas de ARN, que funcionam como nucleases, clivando ARN em determinadas posições específicas, que demonstraram potente actividade antivírica *in vitro*. Heptazima é uma ribozima específica contra VHC, que actua clivando o ARN do

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

vírus na IRES. O seu desenvolvimento foi abandonado devido a mostrar actividade antiviral moderada e a toxicidade provocada em modelos animais (26).

### Inibidores da protease

Como já foi referido a protease NS3 liga-se ao co-factor NS4A e tem actividade de protease serínica, helicase e ATPase. Ela é responsável por clivar as ligações entre as proteínas não estruturais do VHC restantes, além de intervir na inibição do sistema imune do hospedeiro. Estes inibidores podem dividir-se segundo dois tipos de acção bioquímica: inibidores macrocíclicos e os derivados da cetoamida- $\alpha$ .

Ciluprevir (BLIN 2061) foi o primeiro inibidor da protease testado. Esta molécula tem uma acção peptiomimética, sendo um inibidor macrocíclico que se vai ligar de forma não covalente ao centro activo da enzima. Este fármaco demonstrou apresentar boa biodisponibilidade oral, e num estudo com pacientes infectados por VHC genótipo 1 não tratados, mostrou-se eficaz na redução da replicação viral, apresentando no entanto menor eficácia no tratamento de doentes infectados com genótipos 2 ou 3 (11). O desenvolvimento desta molécula foi descontinuado devido a ter sido observada uma séria toxicidade cardíaca no modelo animal (32).

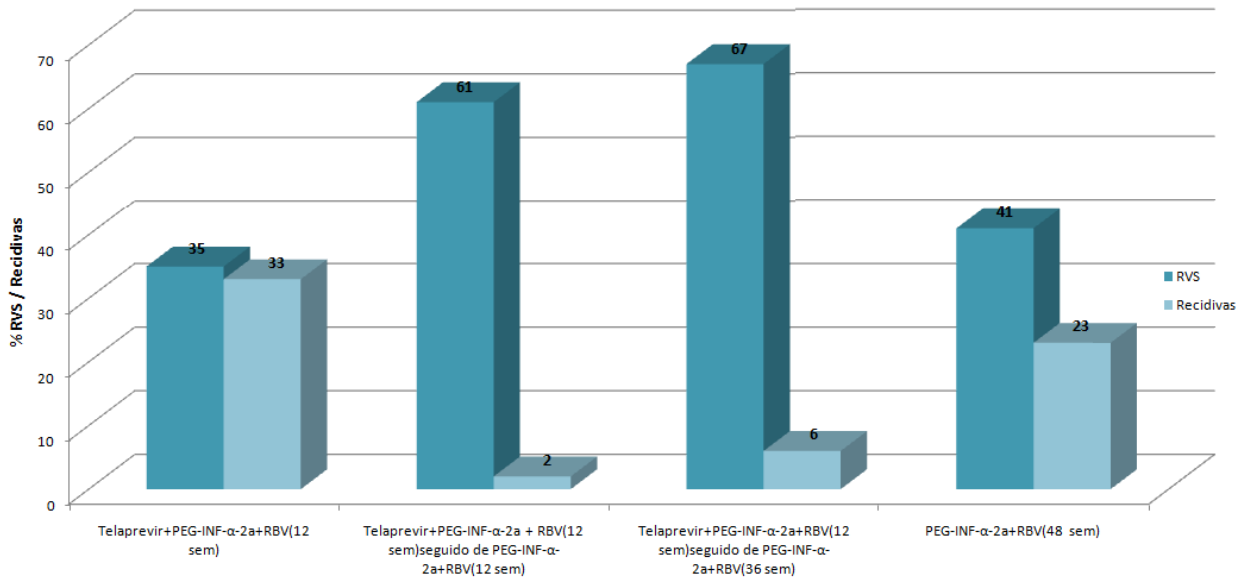
Telaprevir (VX-950) é outro inibidor peptidiomimético, que actua através da formação de uma ligação covalente, mas reversível, com o complexo enzimático através da inclusão de uma cetoamida- $\alpha$  no centro activo da enzima (33). Ensaio clínicos demonstraram que este agente era bem tolerado e apresentava boa biodisponibilidade oral. Num ensaio clínico de fase Ib todos os doentes com HCC genótipo 1 demonstraram uma redução média de cerca de 4.4 log de ARN-VHC sérica (750 mg de telaprevir a cada 8 horas). Foram no entanto, observadas recorrências virais durante a segunda semana de tratamento, devido a selecção de variantes de



## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

VHC resistentes ao fármaco (34). Num estudo mais recente com doentes não tratados (PROVE 1) o telaprevir foi dado em combinação com PEG-INF $\alpha$ -2a e RBV durante 12 semanas, seguido de tratamento com PEG-INF $\alpha$ -2a e RBV por 0, 12 ou 36 semanas, comparando com outro grupo que recebeu tratamento standard. Os níveis de RVS alcançados foram de 35% no grupo tratado com terapia tripla por apenas 12 semanas, 61% e 67% nos grupos que além deste tratamento receberam PEG-INF $\alpha$ -2a e RBV por 12 e 36 semanas respectivamente. A taxa de RVS do grupo controlo ficou-se pelos 41%. De acordo com o protocolo deste estudo o tratamento era interrompido após 12 ou 24 semanas quando era alcançada RVR. O tratamento foi interrompido em 18% dos doentes tratados com telaprevir devido a efeitos adversos graves (rash cutâneo, anemia e alterações gastrointestinais) em comparação com apenas 4% dos sujeitos a terapêutica standard (35). Outro estudo (PROVE 2) era equivalente ao PROVE 1 mas a interrupção do tratamento era independente de alcançar ou não RVR e havia um grupo que não fazia RBV. Os resultados de RVS alcançados foram de 30% no grupo tratado com telaprevir e PEG-INF  $\alpha$ -2a durante 12 semanas, 60% para o grupo submetido a telaprevir, PEG-INF  $\alpha$ -2a e RBV por 12 semanas, e 69% para outro grupo tratado com esta mesma terapêutica tripla por 12 semanas seguida de mais 12 semanas com PEG-INF  $\alpha$ -2a e RBV. O grupo de controlo apresentou níveis de RVS de 46%. As taxas de recidiva nos grupos tratados por 12 semanas foram relativamente altas (48% e 29%) (36). Outro estudo (PROVE 3) analisou a resposta a terapia tripla em não respondedores e doentes com recidiva alcançando RVS na ordem dos 41% e 73% respectivamente, significativamente mais altos que no grupo sujeito ao tratamento standard (RVS de 30%). Estes estudos mostram que o uso de telaprevir associado a PEG-INF  $\alpha$ -2a e RBV pode aumentar significativamente a probabilidades de cura em doentes infectados com genótipo 1, sejam eles não tratados, não respondedores ou vítimas de recidiva. Outros estudos estão em desenvolvimento para melhor corroborar estes resultados.

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?



**Ilustração 7 – Resultados do estudo PROVE 1, comparando diferentes esquemas terapêuticos com Telaprevir + PEG-INF  $\alpha$  2a + RBV vs PEG-INF  $\alpha$  2a + RBV, mostrando percentagens de RVS e de recidivas ao tratamento**

Boceprevir (SCH 503034) é um outro inibidor da protease NS3/NS4A com mecanismo de acção semelhante ao telaprevir. Num estudo de fase IIa esta molécula foi testada em monoterapia durante 14 dias (100-400mg/dia), mostrando uma redução da carga vírica significativa (2.1 log ARN-VHC) em pacientes não respondedores infectados com VHC genótipo 1. Mostrou ter poucos efeitos adversos, contudo alguns pacientes sofreram recidivas (37). Num estudo em não respondedores que pretendia comparar a utilização da combinação boceprevir e PEG-INF  $\alpha$ -2b com o tratamento em monoterapia com estes fármacos isolados, a combinação mostrou significativa redução da carga vírica (2.9 log vs 1.1 log usando PEG-INF  $\alpha$ -2b isolado e 0.5-2.5 log com boceprevir em monoterapia) (38). Um outro ensaio clínico (SPRINT 1) estudou a segurança, tolerabilidade e eficácia antivírica do tratamento com boceprevir (800mg/3 vezes por dia) em combinação com PEG-INF  $\alpha$ -2b e RBV em doentes infectados por VHC genótipo 1 não tratados. O tratamento com combinação tripla foi feito por 24 ou 44 semanas (com 4 semanas de indução com PEG-INF  $\alpha$ -2b e RBV) ou continuamente por 28 ou 48 semanas. O grupo de controlo foi tratado com 48 semanas de PEG-INF  $\alpha$ -2b e RBV. As taxas de RVS obtidas foram de 55% no tratamento triplo de 28 semanas vs 56% no tratamento com 4 semanas de indução seguido de 24 semanas de

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

terapêutica tripla. Nos tratamentos de 48 semanas as RVS foram de 66% (48 semanas de tratamento triplo) vs 74% (4 semanas de indução seguidos de 44 semanas de terapêutica tripla). No grupo de controlo a taxa de RVS alcançada foi de 39% (39).

ITMN-191 e TMC 435350 são dois novos inibidores macrocíclicos da protease com boa disponibilidade oral. O TMC 435350 em monoterapia mostrou-se eficaz reduzindo a ARN-VHC sérica em cerca de 3.9 log, em não respondedores infectados com VHC genótipo 1. Encontra-se a decorrer um estudo de fase II (OPERA 1) para corroborar os resultados dos estudos prévios (40). O ITMN-191 também demonstrou eficácia na redução da carga vírica (até 4 log ARN-VHC), estando a decorrer diversos estudos no sentido de comprovar a sua eficácia em combinação com PEG-INF e RBV em doentes não tratados e não respondedores (41). Está ainda a decorrer um outro ensaio clínico que avalia a eficácia da combinação deste fármaco com um inibidor da polimerase do VHC (R 7128).

ACH-806 é também um inibidor da protease mas o seu mecanismo de acção é ligeiramente diferente, pois ele inibe a acção enzimática através da ligação a subunidade NS4A, impedindo este co-factor de se ligar à enzima. O seu estudo foi abandonado devido a elevação dos níveis de creatinina, mas o importante é que este se mostrou eficaz e não mostrou resistências cruzadas com os outros inibidores da protease (42).

### Inibidores da polimerase

Para que ocorra a síntese de novas cadeias de ARN do vírus, é necessário que se forme um complexo de replicação dentro do hepatócito infectado. Deste complexo fazem parte proteínas virais, proteínas celulares, co-factores e membranas lipídicas derivadas do reticulo endoplasmático da célula infectada. Por parte do vírus as proteínas mais importantes que constituem este complexo são a ARN-polimerase dependente de ARN NS5B, a proteína

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

NS5A e NS4B. Foi descoberto que a proteína celular ciclofilina participava na regulação da proteína viral NS4B, sendo um alvo possível para a terapêutica anti-VHC.

Os inibidores da polimerase NS5B podem dividir-se em dois grupos, consoante o seu mecanismo de acção. Assim existem os inibidores análogos dos nucleosídeos (AN) e os não análogos dos nucleosídeos (NAN). Os primeiros são substratos naturais que são incorporados na cadeia de ARN em crescimento provocando a inibição da enzima pela deslocação do seu centro activo. Como este centro activo corresponde a uma sequência conservada do ARN do VHC, estes fármacos podem ser activos contra diferentes genótipos do VHC e criar poucas resistências. Os inibidores NAN funcionam ligando-se a centros alostéricos da enzima, provocando uma alteração conformacional da mesma que termina com a sua acção. A polimerase NS5B contém múltiplos destes centros, podendo usar-se vários fármacos que se ligam a locais diferentes em associação, numa tentativa de impedir o aparecimento de resistências.

Valopicitabina (NM 283) foi o primeiro inibidor da polimerase AN sintetizado. Os ensaios clínicos de fase I e II usando este fármaco em monoterapia e em combinação com PEG-INF mostraram actividade contra VHC (redução do ARN-VHC de 0.5 log e 2.7 log respectivamente), e não foram detectadas resistências (1). O fármaco mostrou-se igualmente eficaz num estudo comparando o re-tratamento em combinação com PEG-INF vs RBV e PEG-INF, mostrando eficácia ligeiramente superior à terapêutica standard (43). Num outro ensaio clínico usando esta combinação em doentes genótipo 1 não tratados, mostrou-se também eficaz mas com bastantes efeitos adversos (náusea, vómitos e diarreia) (44). Esta molécula mostrou ainda ter interacções com a RBV, resultando na redução da sua eficácia antivírica. O desenvolvimento deste fármaco foi portanto abandonado devido ao seu insuficiente perfil de segurança.

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

R1626 é uma pró-droga do R1479, sendo um inibidor da polimerase AN que mostra boa disponibilidade oral e que nos testes em monoterapia alcançou valores de redução da ARN-VHC entre os 1.2-3.4 log em 14 dias (45). Mostrou ainda ter uma acção sinérgica com outros medicamentos tais como RBV e INF, não se registando aparecimento de resistências. Num ensaio de fase II quando usado em combinação com PEG-INF com ou sem RBV (4 semanas, seguidas de 44 semanas de terapêutica standard) vs terapêutica standard (48 semanas), em doentes infectados com VHC genótipo 1 não tratados, alcançou taxas máximas de resposta no fim de tratamento de cerca de 84% (3 vezes por dia 1500mg), 66% (2 vezes por dia 3000mg), 52% (1500mg/ 2 vezes por dia) vs 65% com terapêutica standard. Neste estudo verificaram-se no entanto vários casos de neutropenia. Apesar de tudo o desenvolvimento deste fármaco acabou por ser suspenso devido ao aparecimento de diversos efeitos adversos graves (46).

O R 7128 é um novo inibidor da polimerase AN. Este fármaco conseguiu reduções (dependente da dose) de ARN-VHC sérica na ordem dos 2.7 log quando usado em monoterapia. Não se registaram recaídas e não houve efeitos adversos graves (47). Estão ainda a decorrer estudos no sentido de verificar a sua eficácia e segurança quando usado em combinação com PEG-INF e RBV.

O A-837093 é também um novo inibidor da polimerase AN, que apresenta grande eficácia antivírica nos estudos em animais. São no entanto necessários mais estudos para corroborar estes resultados e verificar o seu perfil de segurança e tolerabilidade (28).

O HCV-796 é um inibidor da polimerase NAN, que mostrou ser eficaz quando usado em monoterapia em doentes não tratados, atingindo uma redução máxima de VHC-ARN na ordem dos 1.4 log aos 4 dias. Apesar da boa tolerância verificada, mostrou ter bastantes resistências (28). Um outro ensaio testou-o em combinação com PEG-INF, mostrando-se mais eficaz do que em monoterapia (redução de 3.5 vs 1.6 log VHC-ARN aos 14 dias). Mostrou

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

também que não tinha resistências quando utilizado em combinação, tendo no entanto este ensaio sido interrompido devido a elevação das enzimas hepáticas em vários doentes (48).

O VCH-759 já demonstrou ter eficácia antivírica, alcançando reduções do ARN-VHC dependentes da dose na ordem dos 1.9-2.5 log. Foi bem tolerado, apresentando apenas efeitos gastrointestinais ligeiros (31).

Outros inibidores da polimerase NAN apareceram recentemente (GS 9190, PSI-6130, GSK 625433 e ANA 598), tendo demonstrado eficácia contra o VHC, necessitando no entanto de uma investigação mais aprofundada e de mais estudos no sentido de analisar as suas potencialidades enquanto futuro tratamento para a HCC (28).

Outra estratégia potencial para inibir a acção da polimerase é impedir a ligação do ARN à ciclofilina B, que funciona como seu activador, através do uso da ciclosporina A ou de um inibidor específico deste receptor (49). O DEBIO-025 é um novo inibidor da ciclofilina B que demonstrou ter grande actividade vírica contra o VHC e o VIH, alcançando reduções da virémia destes dois vírus na ordem dos 3.6 log para o VHC e dos 1.0 log para VIH. Mostrou ainda ter boa biodisponibilidade oral, bom perfil de segurança e poucas resistências. Noutro estudo tentando avaliar a sua eficácia em combinação com PEG-INF no tratamento de doentes com VHC (genótipos 1, 2, 3 e 4) não tratados, obtiveram-se reduções máximas do ARN-VHC de 4.75 log, contrastando com 2.49 log usando PEG-INF e 2.2 log com DEBIO-025 ambos em monoterapia (50). Estão a decorrer outros ensaios clínicos no sentido de avaliar taxas de RVS alcançadas com esta terapia de combinação. A ciclosporina A demonstrou também ser eficaz contra o VHC, tanto *in vitro* como em ensaios clínicos. Contudo as suas propriedades imunossupressoras não são desejáveis em doentes com HCC não transplantados. Assim foram descobertas dois análogos da ciclosporina que parecem apresentar eficácia anti-VHC, em monoterapia ou combinados com INF, e como menos actividade imunossupressora (51). O NIM811 parece a mais promissora destas moléculas, tendo já demonstrado a sua eficácia em

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

estudos *in vitro* e estando a decorrer mais ensaios clínicos de modo a esclarecer a sua utilidade no tratamento futuro da HCC (26).

### Inibidores de montagem e libertação

Outro mecanismo através do qual se tenta impedir o ciclo de replicação do VHC é inibindo o processo de montagem do seu invólucro viral. Isto pode ser conseguido inibindo a enzima  $\alpha$ -glicosidase, responsável pela glicosilação apropriada das proteínas do invólucro viral E1 e E2, impedindo-o de adquirir a conformação necessária para a montagem e libertação dos novos viriões. O Celgosivir (MX-3256) é um inibidor da enzima  $\alpha$ -glicosidase 1, tendo demonstrado pouca eficácia antivírica em monoterapia, num estudo em doentes com HCC genótipo 1. Noutro ensaio clínico, quando usado em combinação com RBV e PEG-INF em doentes não respondedores, demonstrou uma maior eficácia, alcançando RVI em 42% dos doentes, contra 10% no grupo de controlo. A redução da máxima da ARN-VHC sérico foi de 1.63 log (vs 0.93 log no grupo de controlo), e não apresentou efeitos adversos significativos. Mais estudos são no entanto necessários para corroborar estes resultados (28).

### Imunomoduladores

A resposta imunitária inata é a primeira grande barreira do nosso organismo contra qualquer infecção. Esta resposta é composta essencialmente por duas vias, a do gene do ácido retinoico e a activação dos *tool-like receptor* (TLR). Estes TLR são essenciais para a produção de INF pela própria célula, o que vai levar à produção de muitas substâncias protectoras (como oligoadenilato sintetase, proteínas cinase e outros factores) essenciais na resposta contra o patogeneo invasor. O VHC (através da protease NS3/NS4A) vai diminuir a activação desta via imunitária, debilitando as defesas do hospedeiro e possibilitando a invasão e replicação

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

viral (49). Estão identificados cerca de 10 TLRs, cada um deles capaz de identificar tipos específicos de microrganismos, sendo que os TLR 7 e 8 identificam ARN viral e o TLR 9 sequencias de ADN não metiladas de desoxicitocina-desoxiguanosina (26).

Isatoribina (ANA 245) é um agonista selectivo do TLR 7 que mostrou diminuir a virémia em 12 doentes não tratados com HCC, quando administrada por via endovenosa, com efeitos adversos ligeiros (52). Foi então criada uma pró-droga desta molécula, a ANA 975, com boa biodisponibilidade oral. Ela mostrou ter uma eficácia antivírica semelhante a ANA 245 mas o seu estudo acabou por ser descontinuado devido a provocar toxicidade significativa em modelos animais. O SM 360320 é outro agonista dos TLR 7 que demonstrou em estudos *in vitro* ter capacidade para reduzir ARN-VHC.

Um outro tipo de agonista TLR foi testado, o Actilon (CPG 10101), sendo que este fármaco é um agonista do TLR 9. Ele foi testado em doentes não respondedores em combinação com PEG-INF e RBV, tendo alcançando resultados animadores numa fase inicial. No entanto o seu desenvolvimento acabou por ser suspenso devido a falta de eficácia deste medicamento (28).

Outros mecanismos de modelação imunitária foram testados para o tratamento da HCC mas todos eles acabaram por ser interrompidos devido a falta de eficácia ou tolerância. Foram testados inibidores das caspases (PF-O3491390), tentando inibir a apoptose dos hepatócitos mas apesar da redução dos níveis das aminotransferases não foi encontrado nenhuma eficácia antivírica (26). As interleucinas (IL) foram também estudadas, tal como IL-10 e a IL-29. A IL-10 mostrou reduzir os níveis de aminotransferases e melhorar as lesões histológicas provocadas pela infecção por VHC. Num outro estudo, IL-29 foi administrada a animais, demonstrando activar o sistema imune, através da produção de biomarcadores séricos de INF, actuando apenas a nível hepático e não nos glóbulos brancos (28).



Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

## Outros

Para além destes fármacos existem outras abordagens possíveis no tratamento da infecção por VHC. Assim há vários mecanismos através dos quais se poderá interferir com ciclo natural de infecção deste vírus. A replicação viral está associada com a modelação de múltiplos genes do metabolismo lipídico, daí a possibilidade de através de fármacos que intervenham nestas vias, se poder actuar contra o VHC. As estatinas estão por isso a ser alvo de investigação, no sentido de apurar a sua utilidade e eficácia contra o VHC. Fluvastatina, sinvastatina e lovastatina mostraram ter alguma actividade anti-VHC e um efeito sinérgico com PEG-INF (1).

A Nitazoxanida é um fármaco usado contra infecção de alguns protozoários (*Giardia lamblia* e *Cryptosporidium parvum*). Esta molécula mostrou ter actividade anti-VHC por um mecanismo desconhecido, em estudos *in vitro*. Num outro estudo ela foi usada em combinação com PEG-INF e RBV em doentes não tratados com HCC genótipo 4, comparando esta associação com o uso de PEG-INF e RBV. Os resultados mostraram que com a terapia tripla foram alcançados taxas de RVS mais elevadas (79% vs 43%) do que com a terapia convencional, sem apresentar diferenças significativas quanto aos efeitos adversos (28). Estão a decorrer outros estudos tentando comprovar estes resultados e avaliar a actividade deste fármaco contra outros genótipos do VHC.

A amantadina foi também em tempos vista como uma possível nova arma terapêutica contra o VHC. Esta molécula é utilizada no tratamento da Doença de Parkinson, tendo demonstrado ter actividade antivírica contra alguns vírus de ARN, nomeadamente o vírus *Influenza A*. Contudo esta actividade não foi confirmada num estudo recente, tentando analisar a sua eficácia contra o VHC quando combinada com PEG-INF e RBV em doentes não tratados (53).

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

Mais recentemente foi descoberto um polimorfismo genético que parece ser um preditor independente de resposta em indivíduos infectados com VHC genótipo 1. Este polimorfismo encontra-se no cromossoma 19 e está fortemente associado com maiores taxas de RVS nos doentes portadores do mesmo. Ele situa-se junto do gene IL28B, e codifica INF- $\lambda$ -3 podendo ser o responsável por mais de metade da diferença nas taxas RVS verificadas entre as diferentes etnias, encontrando-se numa maior percentagem em indivíduos caucasianos do que em indivíduos de raça negra, o que pode em parte explicar, as melhores taxas de respostas verificadas nos indivíduos do primeiro grupo. Pensa-se que ele se encontre relacionado com a eliminação inata do VHC no organismo, através da produção de proteínas relacionadas com INF- $\lambda$ -3. Estas descobertas podem permitir a identificação de doentes com maior probabilidade de terem sucesso terapêutico e, através do melhor esclarecimento do eixo intracelular do INF- $\lambda$ -3, permitir o desenvolvimento de um novo tipo de abordagem para os novos fármacos anti-VHC (54).

## Conclusão

A HCC é um problema de saúde pública à escala global, que afecta milhões de pessoas em todo o mundo. Para além disso o grande tempo de evolução desta doença faz com que esteja a aumentar o número de indivíduos com doença hepática progressiva relacionada com VHC. Apesar dos inúmeros avanços verificados no tratamento desta patologia nos últimos vinte anos, existem ainda muitos doentes que não respondem à terapêutica actual, sobretudo aqueles infectados com certos genótipos do VHC, principalmente o genótipo 1 (nos quais cerca de metade dos doentes não virá atingir RVS). Há ainda outros grupos em que as taxas de resposta ao tratamento são muito baixas, como os não respondedores, os doentes que

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

recidivaram pós tratamento e os co-infectados, seja VHC-VHB ou VHC-VIH, que demonstram ter uma progressão mais rápida da doença hepática. Diferentes tipos de abordagem tem sido feitos no sentido de melhorar a eficácia da terapêutica actual, moldando os esquemas de tratamento individualmente, em função de cada doente, tentando assim maximizar a eficácia e minimizar os custos. De notar que, infelizmente, os fármacos que demonstram alguma eficácia anti-VHC apresentam também bastantes efeitos adversos, levando ao sofrimento por parte do doente sujeito ao tratamento e sendo muitas vezes necessária a sua interrupção. Por isso se continuam a investigar novas substâncias que mantendo a eficácia das moléculas originais, apresentem um perfil de segurança e tolerabilidade mais aceitável, capaz de melhorar a adesão ao tratamento. Tanto as novas RBV como os novos INFs se podem apresentar como alternativas à terapêutica actual num futuro próximo, permitindo talvez aumentar a eficácia do tratamento nos grupos que pior respondem ao mesmo.

O conhecimento cada vez mais alargado sobre o ciclo de vida do VHC contribuiu para o aparecimento nos últimos anos de múltiplas drogas, com diversos mecanismos de acção, capazes de travar esta infecção. Os inibidores das proteases são provavelmente, dentro dos STAC-C, aqueles que maiores expectativas têm criado no seio da comunidade científica. Apesar da investigação de muitas destas moléculas ter sido interrompida devido ao aparecimento de efeitos adversos graves, ainda há algumas que se encontram em desenvolvimento e que se espera que possam ser incluídas nos protocolos terapêuticos contra o VHC num futuro próximo. No entanto, o facto de estes medicamentos provocarem o aparecimento de estirpes resistentes cria alguma preocupação, sendo necessária uma melhor avaliação dos mesmos no sentido de melhor compreender os mecanismos que levam a esta situação. Pensa-se, no entanto, que a introdução de um destes novos fármacos no tratamento combinados com a RBV e o PEG-INF possa aumentar a taxa de sucesso da terapêutica,

## Hepatite C crónica, que opções terapêuticas?

permitindo uma nova abordagem para aqueles doentes em que o tratamento convencional se mostra ineficaz.

O desenvolvimento de novas técnicas de detecção do ARN-VHC e de cultura vai permitir uma melhor compreensão do ciclo de vida do VHC e uma melhor definição de doentes não respondedores e de recidivas, possibilitando uma melhor individualização da terapêutica em função das características individuais do doente a tratar, permitindo assim uma optimização do tratamento. Visto que estão em investigação muitos fármacos com múltiplos mecanismos de acção diferentes, parece-me que seria desejável que, num futuro próximo, o tratamento contra VHC fosse feito com várias drogas que actuassem em diferentes pontos do ciclo de vida do vírus, aliando sempre um fármaco com capacidade de imunomodulação. Idealmente os novos fármacos deverão ter uma maior tolerabilidade e também uma maior eficácia e segurança que os já existentes e utilizados no tratamento da HCC.

## Bibliografia

1. **Firpi R., Nelson D.** Current and Future Hepatitis C Therapies. *Archives of Medical Research* . 38, 2007, Vols. 678-690.
2. **Ward R., Kugelmas M.** Using pegylated interferon and ribavirin to treat patients with chronic hepatitis C. *American Family Physicians*. 2005, Vol. 72.
3. **Cuury M., Afdhal N.** Use of Growth Factors with Antiviral Therapy for Chronic Hepatitis C. *Clinics in Liver Disease*. 2005, Vols. 439-451.
4. **Castro, R.S.** *Hepatite Crónica C em doentes com e sem infecção por HIV - evolução e tratamento, 1ª edição*. Porto : Papelmunde, SMG, LDA, 2006.
5. **He Y., Duan W., Tan S.** Emerging Host Cell Target for Hepatitis C therapy. *Drug Discovery Today*. 2007, Vol. 12.
6. **S., Qureshi.** Hepatitis C Virus - Biology, Host Evasion Strategies, and Promising New Therapies on the Horizon. *Medical Research Reviews*. 27, 2007, Vols. 353-373.
7. **Mauss, Berg, Rockstroh, Sarrazin, Wedemeyer.** *Hepatology a clinical textbook*. Duesseldorf : Flying Publisher, 2009.
8. **Dalgard O., Mangia A.** Short-Term Therapie For Patients With Hepatitis C Virus Genotypes 2 And 3 Infection. *Drugs*. 2006.
9. **Thomas L., Seef B.** Natural History of Hepatitis C. *Clinical Liver Disease*. 9, 2005, Vols. 383-98.
10. **Wong W., Terrault N.** Update On Chronic Hepatitis C. *Clinical Gastroenterology And Hepatology*. 2005, Vols. 507-520.
11. **Yuan H., Lee W.** Nonresponse to Treatment for Hepatitis C. *Drugs*. 68, 2008, Vols. 27-42.
12. **Souvignet C., Lejeune O., Trepo C.** Interferon Based Treatment of Chronic Hepatitis C. *Elsivier Masson SAS*. 2007, Vols. 894-898.
13. **Shepherd J., Brodin H., Cave C., Waugh N., Price A., Gabbay J.** Pegylated Interferon Alfa- 2a and - 2b in Combination with Ribavirin in the Treatment of Chronic Hepatitis C: a Systematic and Economic Evaluation. *Health Technology Assessment*. 8, 2004, Vols. 1-125.
14. **Hoofnagle J., Seef L.** Peginterferon and Ribavirin for Chronic Hepatitis C. *New England Journal of Medicine*. 355, 2006, Vols. 2444 - 51.
15. **Keam S., Cvetkovic.** Peginterferon Alfa - 2a (40kD) Plus Ribavirin. *drugs*. 68, 2008, Vols. 1273-2317.
16. **R., Gish.** Treating HCV with ribavirin analogues and ribavirin-like molecules. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 57, 2006, Vols. 8-13.
17. **Brokj, Gluud L, Gluud C.** Ribavirin Monotherapy for Chronic Hepatitis C Infection: a Cochrane Hepato-Biliar Group Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Trials. *American Journal Gastroenterology*. 101, 2006, Vols. 842-7.

18. **McHutchison J., Manns M., Patel K., Poynard T., Lindsay K., Trepo C.** Adherence to Combination Therapy Enhances Sustained Response in Genotype-1-Infected Patients with Chronic Hepatitis C. *Gastroenterology*. 123, 2002, Vols. 1061-9.
19. **Weigand K., Stremmel W., Encke J.** Treatment of Hepatitis C Virus Infection. *World Journal of Gastroenterology*. 13, 2007, Vols. 1897-1905.
20. **Von Wagner M., Huber M., Berg T., Hinrichsen H., Rasenack J., Heintges T., Bergk A., Bernsmeier C., Haussinger D., Herrmann E., Zeuzem S.** Peginterferon-alfa-2a (40 kd) and Ribavirin for 16 or 24 Weeks in Patients With Genotype 2 or 3 Chronic Hepatitis C. *Gastroenterology*. 2, 2005, Vol. 129.
21. **Dalgard O., Bjoro K., Hellum K., Myrvang B., Ritland S., Skaug K., Raknerud N., Bell H.** Treatment With Pegylated Interferon and Ribavirin in HCV Infection With Genotype 2 or 3 for 14 Weeks: A Pilot Study. *Hepatology*. 40, 2004, Vols. 1260-1265.
22. **Mangia A., Santoro R., Minerva N., Ricci G., Carretta V., Persico M., Vinelli F., Scotto G., Bacca D., Annese M., Romano M., Zechini F., Sogari F., Spirito F., Andriulli A.** Peginterferon alfa 2b and Ribavirin for 12 vs 24 Weeks in HCV Genotype 2 or 3. *New England Journal of Medicine*. 352, 2005, Vols. 2609-2617.
23. **Berg T., Von Wagner M., Nasser S., Sarrazin C., Heintges T., Gerlach T., Buggisch P., Goeser T., Rasenack J., Pape G., Schmidt W., Kallinowski B., Klinker H., Spengler U., Martus P., Alshuth U., Zeuzem S.** Extended Treatment Duration for Hepatitis C Virus Type 1: Comparing 48 Versus 72 Weeks of Peginterferon-Alfa-2a Plus Ribavirin. *Gastroenterology*. 2006, Vols. 1086-1097.
24. **B., Pearlman.** Extended-therapy Duration for Chronic Hepatitis C, Genotype 1: The Long and The Short of It. *World Journal of Gastroenterology*. 2008, Vols. 3621-3627.
25. **Darling J., Fried M.** Optimizing Treatment Regimens in Hepatitis C. *Clinical Liver Disease*. 2006, Vols. 835-850.
26. **Deutsch M., Hadziyannis S.** Old and Emerging Therapies in Chronic Hepatitis C: an Update. *Journal of Viral Hepatitis*. 15, 2008, Vols. 2-11.
27. **Cornberg M., Hadem J., Herrmann E., Schuppert F., Schmidt H., Reiser M., Marschal O., Steffen M., Manns M., Wedemeyer H.** Treatment with daily consensus interferon (CINF) plus ribavirin in non-responder patients with chronic hepatitis c: A randomized open-label study. *Journal of Hepatology*. 44, 2006, Vols. 291-301.
28. **Cholongitas E., Papatheodoridis V.** Review Article: Novel Therapeutic Options for Chronic Hepatitis C. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 27, 2008, Vols. 866-884.
29. **T., Witthoft.** Review of consensus interferon in the treatment of chronic hepatitis C. *Biologics: Targets & Therapy*. 2, 2008, Vols. 635-643.
30. **Novozhenov V., Zakharova N., Vinogradova E., Nikitin L., Gorbakov V., Yakovlev A., Pak S., Rafalski V., Bogomolov P., Alessig T., Blanchettg D., Langg W., Langeckerg P., McNallyg J., McHutchison J.** Phase2 Study of Omega Interferon Alone or in Combination with Ribavirin in Subjects with Chronic Hepatitis C Genotipe-I Infection. *Journal of Hepatology*. 46, 2007.

31. **S., Harrison.** Small Molecule and Novel Treatments for Chronic Hepatitis C Virus Infection. *American Journal of Gastroenterology*. 102, 2007, Vols. 2332-2338.
32. **Hinrichsen H., Benhamou Y., Wedemeyer H., Reiser M., Sentjens R., Calleja J.I.** Short-term antiviral efficacy of BLIN 2061, a hepatitis c virus serine protease inhibitor, in hepatitis c genotype 1 patients. *Gastroenterology*. 127, 2004, Vols. 1347-1355.
33. **Hayashi N., Takehara T.** Antiviral therapy for chronic hepatitis C: past, present and future. *Journal of Gastroenterology*. 41, 2006, Vols. 17-27.
34. **Reesink H., Zeuzem S., Weegink C.** Final results of a phase 1b, multiple dose of VX 950, a hepatitis c virus protease inhibitor. *Hepatology*. 44 (supl. 1), 2005, Vol. 231 A.
35. **McHutchison J., Everson G., Gordon S., Jacobson I.** PROVE1: Results from a phase 2 study of telaprevir with peginterferon alfa-2a and ribavirin in treatment-naïve subjects with hepatitis C. *Journal of Hepatology*. 48(Suppl. 2), 2008.
36. **Zeuzem S., Hezode C., Ferenci P.** Telaprevir in Combination with Peginterferon-Alfa-2a with or without Ribavirin in the Treatment of Chronic Hepatitis C: Final Results of the PROVE2 Study. *Hepatology*. 48(Suppl 4), 2008.
37. **Zeuzem S., Sarrazin C., Rouzier R.** Antiviral activity of SCH 503034, a protease inhibitor, administered as monotherapy in hepatitis c genotype-1 patients refractory to pegylated interferon (PEG-INF). *Hepatology*. 42 (supl. 1), 2005.
38. **Zeuzem S., Sarrazin C., Wagner F.** Combination therapy with HCV protease inhibitor SCH 503034, plus Pegintron in hepatitis C genotype 1 pegintron non-responders: phase 1b results. *Hepatology*. 42 (supl. 1), 2005.
39. **Kwo P., Lawitz E., McCone J.** HCV SPRINT-1: Boceprevir plus Peginterferon alfa-2b/Ribavirin for Treatment of Genotype 1 Chronic Hepatitis C in Previously Untreated Patients. *Hepatology*. 48 (supl.4), 2008.
40. **Manns M., Reesink H., Moreno C.** Safety and antiviral activity of TMC435350 in treatment-naïve genotype 1 HCV-infected patients. *Hepatology*. 48 (supl. 4), 2008.
41. **Forestier N., Larrey D., Guyader D.** Treatment of Chronic Hepatitis C Virus (HCV) Genotype 1 Patients with the NS3/4A Protease Inhibitor ITMN-191 Leads to Rapid Reductions in Plasma HCV RNA: Results of a Phase 1b Multiple Ascending Dose (MAD) Study. *Hepatology*. 48 (supl. 4), 2008.
42. **Pottage J., Lawitz E., Mazur D., Wyles D.** Short-term antiviral activity and safety of ACH-806, an NS4A antagonist, in HCV genotype 1 infected individuals. *Journal of Hepatology*. 46 (supl. 1), 2007, Vols. 294-5.
43. **Afdhal N., O'Brien C., Godofsky E.** Valopicitabina alone or with pegylated interferon, compared to pegylated interferon/ribavirine retreatment in HVC-1 infection and prior nonresponse to peg-INF/ribavirin: one year results. *Journal of Hepatology*. 46 (supl.1), 2007, Vol. S5.
44. **Lawitz E., Nguyen T., Younes Z.** Valopicitabina (NM283) plus peg-interferon in treatment-naïve Hepatitis C patients with HCV genotype 1 infection: HCV RNA clearance during 24 weeks of treatment. *Hepatology*. 44 (supl. 1), 2006, Vol. 223 A.

45. **Roberts S., Cooksley G., Dore G.** Results of phase 1b, multiple dose study of R1626, a novel nucleoside analogue targeting HCV polymerase in chronic HCV genotype 1 patients. *Hepatology*. 44 (suppl. 1), 2006, Vol. 692 A.
46. **Pockros P., Nelson D., Godofsky E., Rodriguez-Torres M.** "R1626 plus peginterferon ALFA-2a provides potent suppression of hepatitis c virus RNA and significant antiviral synergy in combination with ribavirin. *Hepatology*. 48 (2), 2008, Vol. 1025A.
47. **Reddy R., Rodrigues-Torres M., Gane E.** Antiviral activity pharmacokinetics and tolerability of R 7128, a novel nucleoside HCV RNA polymerase inhibitor following multiple ascending doses in patients with HCV genotype 1 infection who had failed prior interferon therapy. *Hepatology*. 46 (suppl. 1), 2007, Vol. 862A.
48. **Villano S., Raible D., Harper D., Speth J.** Antiviral activity of the non-nucleoside polymerase inhibitor, HCV-796, in combination with pegylated interferon alfa-2b in treatment-naive patients with chronic HCV. *Journal of Hepatology*. 46 (suppl. 1), 2007, Vol. 24.
49. **G., Davis.** New Therapies: Oral inhibitors and Immune Modulators. *Clinical Liver Disease*. 10, 2006, Vols. 867-880.
50. **Flisiak R., Feinman V., Jablkowski M., Horban A.** Efficacy and safety of increasing doses of the cyclophilin inhibitor DEBIO-025 in combination with pegylated interferon alpha-2a in treatment naïve chronic HCV patients. *Journal of Hepatology*. 48 (suppl. 2), 2008, Vol. 62.
51. **Goto K., Watashi K., Murata T., Hishiki T., Hijikata M., Shimotohno K.** Evaluation of the anti-hepatitis C virus effects of cyclophilin inhibitors, cyclosporin A, and NIM811. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 343, 2006, Vols. 879-884.
52. **Horsmans Y., Berg T., Desager JP., Mueller T., Schott E., Fletcher S., Steffy K., Bauman L., Kerr B., Averett D.** Isatoribin, an Agonist of TLR7, Reduces Plasma Virus Concentrations in Chronic Hepatitis C Infection. *Hepatology*. 42, 2005, Vols. 724-731.
53. **von Wagner M., Hofmann WP., Teuber G.** Randomized double-blind placebo-controlled trial of peginterferon alfa-2a (40KD) and ribavirin with and without 400MG amantadine-sulphate for 48 weeks in treatment naive HCV genotype 1 infected patients. *Hepatology*. 46 (suppl. 1), 2007, Vol. 342A.
54. **Ge D., Fellay J., Thompson A., Simon J., Shianna K., Urban T., Heizen E., Qiu P., Bertelsen A., Muir A., Sulkowski M., McHutchison J., Goldstein D.** Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature*. 461, 2009, Vols. 399 - 401.
55. **Davis G., Wong J., McHutchison J., Manns M., Harvey J., Albrecht J.** Early virologic response to treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 38, 2003, Vols. 645 - 652.



56. **Conjeevaram H., Fried M., Jeffers L., Terrault N., Wiley-Lucas T., Afdhal N.** Peginterferon and ribavirin treatment in african american and caucasian american patients with hepatitis C genotype 1. *Gastroenterology*. 131, 2006, Vols. 470 - 477.
57. **Jeffers L., Cassidy W., Howell C., Hu S., Reddy K.** Peginterferon alfa-2a (40 kd) and ribavirin for black American patients with chronic HCV genotype 1. *Journal of Hepatology*. 39, 2004, Vols. 1702 - 1708.
58. **Muir A., Bornstein J., Killenberg P.** Peginterferon alfa-2b and ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C in blacks and non-Hispanic whites. *New England Journal of Medicine*. 350, 2004, Vols. 2265 - 2271.
59. **Pockros P., Shiffman M., Schiff E., Sulkowski M., Younossi Z., Dieterich D.** Epoetin alfa improves quality of life in anemic HCV-infected patients receiving combination therapy. *Hepatology*. 40, 2004, Vols. 1450 - 1458.
60. **Sporea I., Popescu A., Sirli R., Golea O., Totolici C., Danila M.** Pegylated-interferon alpha 2a treatment for chronic hepatitis C in papatients on chronic haemodialysis. *World Journal of Gastroenterology*. 12, 2006, Vols. 4191 - 4194.
61. **Torriani F., Rodriguez-Torres M., Rockstroh J., Lissen E., Gonzalez-Garcia J., Lazzarin A.** Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients. *New England Journal of Medicine*. 351, 2004, Vols. 438 - 450.
62. **D., Rockety.** New therapies in hepatitis C virus and chronic liver disease: antifibrothics. *Clinics in liver disease*. 10, 2006, Vols. 881 - 900.
63. **Cross T., Antoniadis C., Harrison P.** Current and future management of chronic hepatitis C infection. *Postgraduation Medical Journal*. 84, 2008, Vols. 172 - 176.
64. **Herrmann E., Lee J., Marinos G., Modi M., Zeuzem S.** Effect of ribavirin on hepatitis C viral kinetics in patients treated with pegylated interferon. *Hepatology*. 37, 2003, Vols. 1351 - 1358.
65. **Layden-Almer J., Cotler S., Layden T.** Viral kinetics in the treatreatment of chronic hepatitis C. *Journal of Viral Hepatatology*. 2006, Vols. 499-504.