



Joana Filipa Castanheira Valentim

## Tratamento da hepatite C e fatores que influenciam a resposta à terapêutica

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Paula Cristina dos Santos Luxo Maia e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Joana Filipa Castanheira Valentim

# Tratamento da hepatite C e fatores que influenciam a resposta à terapêutica

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Paula Cristina dos Santos Luxo Maia e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Joana Filipa Castanheira Valentim, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2010128597, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade curricular de Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer informação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 7 de Setembro de 2015

---

(Joana Filipa Castanheira Valentim)

A Tutora

---

(Professora Doutora Paula Cristina dos Santos Luxo Maia)

A Aluna

Joana Filipa Castanheira Valentim  
(Joana Filipa Castanheira Valentim)

## **A. Agradecimentos**

É com satisfação e contentamento que profiro os meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que contribuíram e participaram na minha vida académica. Assim, um obrigada:

Aos meus pais e irmã pelo apoio incondicional, compreensão, amor e confiança que me deram em todos os passos da minha vida.

À minha orientadora, Professora Doutora Paula Cristina dos Santos Luxo Maia pela disponibilidade, esforço e ajuda.

A todos os meus amigos de sempre e aos que conquistei em Coimbra, pela partilha de momentos únicos e pela alegria, coragem e auxílio.

A todos os professores da Faculdade Farmácia da Universidade de Coimbra, pelo esforço e entrega de conhecimentos das diferentes áreas farmacêuticas.

À bela cidade dos estudantes, Coimbra!

## B. Índice

<b>A. Agradecimentos</b> .....	5
<b>B. Índice</b> .....	6
<b>C. Lista de Abreviaturas</b> .....	8
<b>D. Resumo</b> .....	9
<b>E. Abstract</b> .....	9
<b>F. Tratamento da Hepatite C e Fatores que Influenciam a Resposta à Terapêutica</b> .....	10
<b>HEPATITE C</b> .....	10
1. Contexto histórico.....	10
2. História natural da infecção .....	10
3. Manifestações clínicas e curso serológico .....	10
4. Transmissão do vírus .....	11
5. Prevalência e coinfeção com vírus da imunodeficiência humana.....	11
6. Prevenção.....	12
<b>VÍRUS DA HEPATITE C</b> .....	12
1. Estrutura e genoma.....	12
2. Ciclo de vida.....	13
3. Genótipos e <i>quasi</i> -espécies .....	15
<b>TRATAMENTO DA HEPATITE C</b> .....	15
1. Peginterferão .....	16
2. Ribavirina.....	16
3. Antiviricos de Ação Direta .....	17
3.1. Inibidores do complexo proteico NS3/4A.....	17
3.2. Inibidores da proteína NS5A.....	17
3.3. Inibidores da proteína NS5B.....	18
4. Resposta ao tratamento .....	18
<b>FATORES QUE INFLUENCIAM A RESPOSTA À TERAPÊUTICA</b> .....	19
1. Fatores Virais .....	19
1.1. Genótipo .....	19
1.2. Carga viral .....	19
1.3. Heterogeneidade em <i>quasi</i> -espécies .....	19
2. Fatores do Hospedeiro .....	20
2.1. Grupo étnico.....	20
2.2. Polimorfismo de genes .....	20
2.2.1. Polimorfismo do gene IL28B .....	20

2.2.2. Polimorfismo do gene da bomba exportadora de sais biliares .....	21
2.2.3. Polimorfismo do gene do recetor da vitamina D.....	21
2.3. Outros fatores .....	22
<b>G. Referências Bibliográficas .....</b>	<b>23</b>

### **C. Lista de Abreviaturas**

- AADs - Antivíricos de Ação Direta
- BESB - Bomba exportadora de sais biliares
- GAG - Glicosaminoglicano
- GTP - Guanosina trifosfato
- HAART - *Highly Active Anti-Retroviral Therapy*
- HNANB - Hepatite não-A e não-B
- IL28B - Interleucina 28B
- INF - Interferão
- IRES - *Internal ribosome entry site*
- LDL - *Low density lipoprotein*
- PegINF - Peginterferão
- RBV - Ribavirina
- RNA - *Ribonucleic acid*
- RNC - Região não codificante
- RpRd - RNA polimerase dependente de RNA
- RVS - Resposta Viroológica Sustentada
- SNP - *Single nucleotide polymorphisms*
- SOF - Sofosbuvir
- SR-BI - *Scavenger receptor class B type I*
- VHC - Vírus da hepatite C
- VIH - Vírus da imunodeficiência humana
- (+) ssRNA - Cadeia linear de RNA de polaridade positiva



#### **D. Resumo**

A hepatite C é uma doença viral caracterizada pela inflamação do fígado e estima-se que existam cerca de 200 milhões de pessoas infectadas em todo o mundo. O aparecimento de cerca de 3 a 4 milhões de novos casos por ano conduz ao aumento da frequência de casos de cirrose hepática e de carcinoma hepatocelular. Esta doença é causada pela infecção do indivíduo com o vírus da hepatite C, sendo a via de transmissão principal a via parenteral. Apesar dos indivíduos infectados poderem sentir fadiga, a hepatite C evolui de forma assintomática e, por isso, é crucial a implementação de medidas preventivas de forma a contornar os fatores de risco associados à transmissão da infecção. Os primeiros fármacos aprovados para o tratamento desta infecção são imunomoduladores e apenas garantem eficácia em 50-80% dos doentes tratados. Recentemente, a introdução de fármacos de ação direta permitiu um aumento significativo da resposta à terapêutica. Contudo, a eficácia da terapêutica é condicionada por fatores virais e do hospedeiro e, assim, a sua identificação é crucial na determinação da terapia a instituir. Tendo em consideração a estrutura viral, o ciclo de vida do vírus e os fatores que influenciam a resposta à terapêutica, o desenvolvimento contínuo dos fármacos não só é decisivo no combate à evolução da doença mas também na melhoria dos efeitos indesejáveis dos fármacos disponíveis.

#### **E. Abstract**

Hepatitis C is a viral disease characterized by the inflammation of the liver. It is estimated that approximately 200 million people are infected worldwide. The appearance of about 3 to 4 million new cases each year leads to an increased frequency of cases of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. This disease is caused by infection of the individual with the Hepatitis C virus, being the main transmission via the parenteral route. Despite the affected people may feel some fatigue, hepatitis C evolves asymptotically and therefore is crucial to implement preventive measures in order to circumvent the risk factors associated with the transmission of this disease. The first drugs approved for treatment of disease are immunomodulators, which only guarantee effectiveness in 50-60% of treated patients. But recently, the introduction of direct action drugs has allowed a significant increase of therapy response. However, the success of the therapy is conditioned by viral and host factors, and thus, their identification is the decisive factor in the choosing of the most suitable therapy for each person. Considering the viral structure, the virus life cycle and the factors that influence the therapeutic efficacy, it is critical to continue developing drugs that fight the disease progression but that also improve the undesirable effects of available drugs.

## **F. Tratamento da Hepatite C e Fatores que Influenciam a Resposta à Terapêutica**

### **HEPATITE C**

#### **I. Contexto histórico**

A hepatite C é a infecção causada pelo vírus da hepatite C (VHC). Em 1975, após a análise de amostras serológicas para os vírus da hepatite A e B, detetou-se casos de hepatite associados a transfusões sanguíneas e que não eram causados pelos agentes referidos. Estes casos foram designados por hepatite não-A e não-B (HNANB) (Feinstone *et al.*, 1975). Em 1989, o VHC foi identificado após o estudo do genoma do vírus associado aos casos de HNANB (Choo *et al.*, 1989).

#### **2. História natural da infecção**

Cerca de 20% dos doentes infetados com o VHC resolvem a infecção aguda e os restantes 80% evoluem para a fase crónica da doença. Nesta fase, a evolução lenta para cirrose ocorre em 20% dos doentes, podendo cerca de 5% vir a desenvolver carcinoma hepatocelular, refletindo-se no tempo em casos de transplante hepático e/ou morte. Assim, a cirrose é o estado inicial obrigatório ao desenvolvimento do carcinoma (Lauer e Walker, 2001). Os doentes co-infetados com o vírus da imunodeficiência humana (VIH) e/ou com hábitos alcoólicos apresentam maior predisposição e uma evolução mais rápida do carcinoma hepatocelular (Matthews-Greer *et al.*, 2001).

#### **3. Manifestações clínicas e curso serológico**

A hepatite C aguda e a hepatite C crónica apresentam manifestações clínicas e curso serológico distintos. O período de incubação é normalmente de 6 a 12 semanas (2 a 26 semanas em alguns casos) (Ferri, 2009). A fase aguda da doença é normalmente assintomática, dificultando o diagnóstico. Contudo podem surgir alguns sintomas, como: náuseas, vómitos, mal-estar, dor no quadrante superior do abdómen e icterícia. A hepatite C crónica é considerada uma epidemia silenciosa, uma vez que a evolução da doença é assintomática e lenta. No entanto, a fadiga é o sintoma vulgar, sendo menos comum: náuseas, mialgia, anorexia, artralgia e perda de peso. A longo prazo pode evoluir para cirrose, insuficiência hepática, carcinoma hepatocelular e morte (Dienstag e Delemos, 2015).

Após a infecção, o primeiro marcador viral a ser detectado no sangue é o ácido ribonucleico (RNA - *ribonucleic acid*), que aumenta ao longo da primeira semana, atingindo o seu pico entre a segunda e a sexta semana. Após o decréscimo gradual do RNA viral, a partir da sétima semana, ocorre o aumento das transaminases. Os anticorpos anti-VHC estão presentes no sangue no início da sétima/oitava semana de infecção. O RNA viral torna-se indetectável e as transaminases normalizam a partir da décima quarta semana, em doentes cuja infecção aguda esteja resolvida. Quando ocorre evolução para a fase crónica, o RNA viral e as transaminases apresentam níveis de flutuação, visto que a infecção não está resolvida. Os anticorpos anti-VHC estão presentes durante a vida dos doentes (Ferri, 2009).

#### 4. Transmissão do vírus

A via de transmissão principal é a via parenteral, podendo também ocorrer a transmissão do VHC por via nosocomial, sexual e vertical. Os doentes podem adquirir a infecção através de transfusões sanguíneas, administração de produtos sanguíneos, utilização de drogas intravenosas por partilha de agulhas contaminadas, picadas acidentais com agulhas contaminadas (profissionais de saúde), transplante de órgãos, exposições percutâneas (tatuagens e acupuntura), relações sexuais com parceiro infetado e nascimento de uma mãe infetada com VHC (Ray e Thomas, 2015). O risco de transmissão do vírus pela via sexual e vertical é maior em casos de co-infecção pelo VIH e níveis elevados de virémia (Sulkowski, 2008).

#### 5. Prevalência e coinfeção com vírus da imunodeficiência humana

Atualmente, há aproximadamente 200 milhões de pessoas infetadas com o VHC, estimando-se que ocorram 3 a 4 milhões de novos casos por ano (Bruijne, de *et al.*, 2009). Estima-se que 130 a 170 milhões dos doentes infetados tenham infecção crónica e que ocorram 350 mil mortes por ano devido às complicações da doença. A sua prevalência é elevada na Ásia Central, Este da Ásia e Norte de África (Wei e Lok, 2014).

Cerca de 34% dos indivíduos portadores do VHC estão co-infetados com o VIH. Esta co-infecção é comum nos indivíduos utilizadores de drogas intravenosas. A Terapia Antirretroviral Altamente Ativa (HAART - *Highly Active Anti-Retroviral Therapy*) administrada a doentes infetados com VIH permite o aumento da esperança e qualidade de vida destes doentes, contribuindo para a diminuição do número de mortes resultantes da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida. O aumento da esperança de vida destes doentes permite a

manifestação das complicações hepáticas associadas à infecção com o VHC, o que não acontecia antes da introdução da terapia HAART. A doença hepática crônica associada à hepatite C em indivíduos portadores de VIH é uma das principais causas de internamento hospitalar e de morte dos indivíduos (Sulkowski, 2008).

## 6. Prevenção

As principais medidas para prevenir a hepatite C incluem o rastreio dos doadores de sangue, órgãos e tecidos, cuidados com a manipulação do sangue e outros fluidos biológicos e evitar comportamentos de risco, como a partilha de seringas contaminadas e relações sexuais desprotegidas (Backmund *et al.*, 2005). Até ao momento, não existe vacina porque o VHC apresenta uma elevada variabilidade genética, elevada capacidade de evasão ao sistema imune do hospedeiro e não se multiplica *in vitro*. Até hoje, o único modelo animal alvo de investigação foi o chimpazé (*Pan troglodytes*) (Honegger, Zhou e Walker, 2014; Puig *et al.*, 2006).

## VÍRUS DA HEPATITE C

### I. Estrutura e genoma

O VHC pertence ao género *Hepacivirus* da família *Flaviridae* (Lindenbach e Rice, 2013). É um vírus esférico com cerca de 55 – 65 nm de diâmetro (Kaito *et al.*, 1994). O vírus tem uma nucleocápside icosaédrica formada pelas proteínas do core, que é revestida pelo envelope no qual se inserem duas glicoproteínas virais E1 e E2. O genoma é uma cadeia linear de RNA de polaridade positiva [(+) ssRNA], constituída por cerca de 9600 nucleótidos (9.6 Kb) (Ashfaq *et al.*, 2011).

O genoma apresenta duas regiões não codificantes (RNC): 5'-RNC e 3'-RNC. A primeira região possui a estrutura IRES (*Internal ribosome entry site*) que interage com o ribossoma da célula hospedeira para iniciar a tradução do RNA mensageiro em proteínas. A região 3'-RNC está envolvida no início da replicação do genoma viral (Penin *et al.*, 2004). Estas duas regiões não codificantes estão separadas por uma região *Open Reading Frame* que é traduzida numa poliproteína com cerca de 3000 aminoácidos. Esta poliproteína é posteriormente processada por proteases celulares e virais, dando origem a proteínas estruturais (proteína do core e proteínas transmembranares E1 e E2) e proteínas não

estruturais (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B) (Lindenbach e Rice, 2013; Penin et al., 2004).

## 2. Ciclo de vida

O VHC circula na corrente sanguínea na forma livre ou associado a lipoproteínas de baixa densidade (LDL - low density lipoprotein) ou lipoproteínas de muita baixa densidade (VLDL - very low density lipoprotein) (Monazahian et al., 1999). O vírus apresenta um elevado tropismo para os hepatócitos, sendo estas as células-alvo, mas também pode infectar linfócitos B (Voisset et al., 2005).

A partícula viral entra no hepatócito através da ligação a recetores de membrana. Atualmente, são conhecidos vários recetores de ligação: proteína tetraspanina CD81, recetor das LDL, *scavenger receptor class B type I* (SR-BI), claudina-I e glicosaminoglicanos (GAG) (Agnello et al., 1999; Barth et al., 2003; Evans et al., 2007; Pileri, 1998; Scarselli et al., 2002). Numa fase inicial, parece ocorrer uma interação da LDL com o recetor de LDL em simultâneo à ligação da glicoproteína E2 do envelope viral com o GAG, contribuindo para a posterior interação da proteína E2 com o recetor celular do hepatócito (CD81, SR-BI). Posteriormente, o complexo proteico *tight junctions* está envolvido na entrada do VHC no hepatócito, por intermédio do seu componente claudina-I que interage com a E2 (Helle e Dubuisson, 2008).

A internalização do vírus ocorre por endocitose mediada pela clatrina. A acidificação do endossoma formado induz alterações conformacionais e rearranjo das glicoproteínas virais e, conseqüentemente, fusão do envelope viral com a membrana endossomal (Blanchard et al., 2006). De seguida, ocorre a descapsidação, permitindo a libertação do genoma viral para o citosol da célula hospedeira (Pawlotsky, Chevaliez e McHutchison, 2007).

No retículo endoplasmático rugoso, inicia-se o processo de tradução do RNA viral formando-se a poliproteína do VHC. Esta etapa é regulada pelo IRES, que é constituído pelos domínios II, III e IV da região 5'-RNC e pelos primeiros 12 a 30 nucleótidos da região codificante do core (Honda et al., 1996). O IRES medeia o início da tradução através do recrutamento dos fatores de iniciação eucariótico 2 e 3 (Ji et al., 2004). De seguida, ocorre a formação do complexo 48S, formado pelo IRES, subunidade 40S ribossomal, fatores de iniciação eucariótico 2 e 3, guanósina trifosfato (GTP) e RNA transferência iniciador. Após hidrólise do GTP, ocorre a associação da subunidade 60S ribossomal ao complexo e, por

consequente, o início da síntese da poliproteína precursora (Kieft *et al.*, 2001; Otto e Puglisi, 2004).

A poliproteína é processada por proteases virais e celulares, originando as proteínas estruturais e não estruturais. As peptidases celulares (peptidase sinal e peptidase peptído sinal) efetuam a clivagem nos pontos de junção de proteínas: core/E1, E1/E2, E2/p7 e p7/NS2. A NS2 é uma autoprotease dependente de zinco que cliva a ligação entre as proteínas NS2 e NS3. A proteína NS3 é uma serina protease, que juntamente com o seu cofator NS4A, clivam os pontos de junção de proteínas NS3/NS4A, NS4A/NS4B, NS4B/NS5A e NS5A/NS5B (Lindenbach e Rice, 2013; Penin *et al.*, 2004).

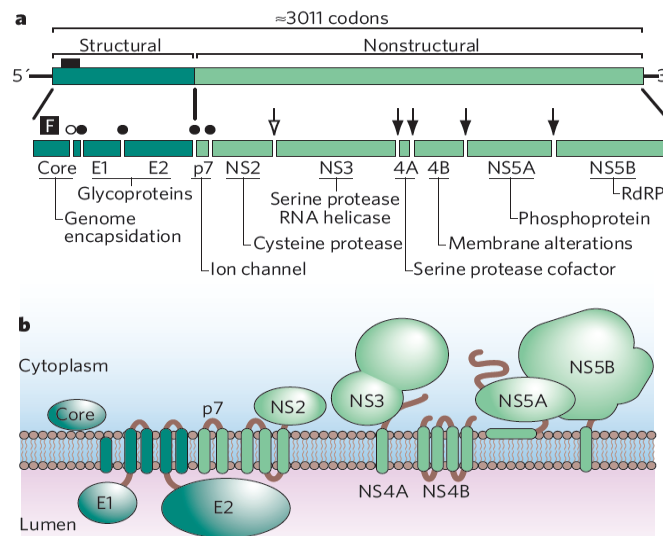


Figura 1 – a. Estrutura do genoma viral e processamento da poliproteína; b. Proteínas estruturais e não estruturais. (Adaptado de Lindenbach e Rice, 2005)

A replicação do genoma é catalisada pela replicase viral NS5B (RpRd - RNA polimerase dependente de RNA). A partir da cadeia de (+) ssRNA inicial, a RpRd origina a formação de uma cadeia linear de RNA de polaridade negativa, que serve de molde à formação das novas cadeias de (+) ssRNA (Bartenschlager, Frese e Pietschmann, 2004). A replicação ocorre numa estrutura, constituída por vesículas envolvidas numa matriz membranosa onde estão presentes proteínas celulares e virais não estruturais, que constituem o complexo de replicação (Egger *et al.*, 2002).

Os novos genomas virais são encapsidados pelas proteínas do core e internalizados pela membrana do retículo endoplasmático, onde as proteínas E1 e E2 já foram previamente inseridas. Através da via secretora, ocorre a formação de vesículas que proporcionam a libertação das novas partículas virais para o espaço extracelular (Blanchard *et al.*, 2003; Penin *et al.*, 2004).

### 3. Genótipos e *quasi*-espécies

O genoma do VHC apresenta um elevado grau de variabilidade genética devido à elevada taxa de replicação, baixa fidelidade da RpRd e inexistência de mecanismos de verificação e correção de erros da RpRd. As duas regiões mais variáveis do genoma (região hipervariável 1 e região hipervariável 2) estão localizadas na sequência nucleotídica que codifica a proteína E2. Por outro lado, as regiões mais conservadas do genoma viral são a região 5'-RNC e a parte terminal da região 3'-RNC (Simmonds, 2004). Devido à variabilidade genética do VHC são conhecidos seis genótipos (genótipo 1, 2, 3, 4, 5 e 6), que a nível nucleotídico diferem entre si em 31 a 33%. Cada genótipo pode estar dividido em vários sub-tipos, que a nível de sequência nucleotídica diferem entre si em 20 a 25%, existindo mais de 50 sub-tipos (Simmonds *et al.*, 2005). Também ocorre a formação de *quasi*-espécies presentes num único indivíduo. Os genótipos 1, 2 e 3 e os seus sub-tipos têm uma distribuição global. O genótipo 4 prevalece na África Oriental/Médio Oriente, o genótipo 5 na África do Sul e o genótipo 6 no Sudoeste Asiático (Simmonds, 2001; Wei e Lok, 2014). Um estudo revela a probabilidade de existência de um sétimo genótipo, por análise do VHC de um doente emigrante do Congo (Smith *et al.*, 2014).

As mutações nas regiões hipervariáveis ocorrem espontaneamente ao longo do tempo e em resposta à pressão do sistema imunitário e à terapêutica instituída. A elevada capacidade de mutação do VHC confere-lhe a vantagem de aumentar a sua persistência no organismo, escapando aos mecanismos de defesa do sistema imunitário. A alteração constante da proteína E2 reflete-se no aparecimento de novos epítopes e, portanto, os anticorpos circulantes deixam de reconhecer estes novos epítopes (Simmonds, 2004).

## TRATAMENTO DA HEPATITE C

O tratamento da infeção tem o objetivo de eliminar o RNA viral, impedindo a progressão da doença hepática crónica e, conseqüentemente, as suas manifestações clínicas (Ghany *et al.*, 2009). O primeiro fármaco aprovado para o tratamento da hepatite C foi o interferão (INF). Mais tarde, foi aprovada a combinação terapêutica de peginterferão- $\alpha$  (PegINF- $\alpha$ ) e ribavirina (RBV), observando-se uma taxa de Resposta Viroológica Sustentada (RVS) na ordem dos 50% para o genótipo 1 e 80% para o genótipo 2 e 3 (Fried *et al.*, 2002; Manns *et al.*, 2001). Recentemente, foram aprovados vários Antivíricos de Ação Direta (AADs), sendo classificados de acordo com o seu alvo: inibidores da NS3/4A, inibidores da

NS5A e inibidores da NS5B. Estes novos fármacos não induzem os efeitos secundários associados à terapêutica com INF/RBV e causam um aumento da RVS à terapêutica (deLemos e Chung, 2014). A escolha do regime terapêutico depende da eficácia e segurança dos fármacos e do perfil clínico do doente.

## 1. Peginterferão

Os interferões são proteínas produzidas no organismo em resposta a uma infeção viral, cujo mecanismo de ação não é totalmente conhecido. Contudo, parecem desempenhar várias funções, como efeito antivírico e imunomodulador (Tilg, 1997). De acordo com os seus recetores, estas proteínas são classificadas em três famílias: tipo I (INF- $\alpha$ , INF- $\beta$ , INF- $\omega$ , INF- $\kappa$  e INF- $\epsilon$ ), tipo II (INF- $\gamma$ ) e tipo III (INF- $\lambda$ ) (Donnelly, Dickensheets e O'Brien, 2011).

Quando o hepatócito é infetado, parece ocorrer a formação de *interferon regulatory factor* (IRF) 3 e 7, que, por conseguinte, induzem a expressão de INF do tipo I (INF- $\alpha$ , INF- $\beta$ ) e do tipo III. Estes interagem com os respetivos recetores da membrana celular do hepatócito: recetor INF- $\alpha$  (RIFNA) e recetor heterodimérico IL28-R $\alpha$ /IL-10R2. A ligação ligando/recetor induz a via de sinalização JAK/STAT (*Janus kinases/ signal transducers and activators of transcription*) que, juntamente com o IRF9, vão modular a transcrição dos genes estimuladores de interferão (ISGs - *interferon stimulated genes*). Assim, é estimulada a produção de INF do tipo I e III, que vão induzir o estado antiviral do hepatócito (Ank *et al.*, 2006; Marcello *et al.*, 2006; Onoguchi *et al.*, 2007).

Atualmente, para a hepatite C está disponível o PegINF- $\alpha$ 2a e o PegINF- $\alpha$ 2b. Estes fármacos têm efeitos secundários, sendo os mais comuns: anemia, alopecia, leucopenia, trombocitopenia, perda de apetite, depressão, ansiedade, insónia, náuseas e fadiga. (Ghany *et al.*, 2009).

## 2. Ribavirina

A RBV é um análogo sintético do nucleosídeo guanosina que apresenta atividade *in vitro* para alguns vírus de RNA. Atualmente, ainda é desconhecido o mecanismo pelo qual exerce o seu efeito antivírico (INFARMED, 2014), embora lhe seja atribuída atividade imunomoduladora, ação inibidora da RpRd, ação mutagénica sob o genoma viral e ativação das células T *helper* 1 (Crotty *et al.*, 2000; Feld *et al.*, 2007; Maag *et al.*, 2001; Tam *et al.*, 1999).

A RBV é administrada em combinação com PegINF e não é utilizada em monoterapia. A terapia de combinação está associada não só os efeitos secundários do PegINF já referidos,



mas também aos da RBV, como por exemplo: anemia, depressão, insônia, dor de cabeça, perda de apetite, náuseas, dor abdominal, reação cutânea e mialgias (INFARMED, 2014).

### 3. Antivíricos de Ação Direta

#### 3.1. Inibidores do complexo proteico NS3/4A

O alvo dos inibidores NS3/4A é o complexo proteico NS3/4A. A proteína NS3 apresenta um domínio helicase e um domínio serina protease, em que neste último domínio está localizado o local ativo da proteína (Grakoui *et al.*, 1993). Os inibidores bloqueiam a ação do complexo através da ligação ao local ativo da proteína NS3, impedindo o processamento completo da poliproteína e, de modo consequente, a replicação do vírus no hepatócito (European Medicines Agency, 2013).

Os fármacos telaprevir e boceprevir constituem a primeira geração desta classe de inibidores, que estão aprovados em combinação com PegINF- $\alpha$  e RBV, obtendo uma taxa de RVS em doentes infetados com o VHC do genótipo 1 (Bacon *et al.*, 2011; Jacobson *et al.*, 2011). Esta terapêutica está associada a efeitos adversos, como erupção cutânea e anemia (Cacoub *et al.*, 2012; Poordad *et al.*, 2013). O fármaco de segunda geração simeprevir é administrado em combinação com PegINF- $\alpha$  e RBV, podendo também ser associado ao sofosbuvir (SOF), em doentes infetados com VHC de genótipo 1 e 4. O simeprevir tem como efeitos secundários as náuseas, erupção cutânea, prurido e dispneia (Agency, 2015).

#### 3.2. Inibidores da proteína NS5A

Os inibidores da proteína NS5A atuam nesta proteína, uma fosfoproteína essencial na formação do complexo de replicação e na montagem das novas partículas virais. Esta proteína é constituída pelos domínios 1, 2 e 3 e apresenta uma  $\alpha$ -hélice anfipática no terminal amina, que permite a sua ligação à membrana do retículo endoplasmático (Tellinghuisen, Marcotrigiano e Rice, 2005). Através da ligação ao domínio 1, os inibidores ligam-se à proteína NS5A, bloqueando a capacidade de regulação da replicação do RNA pelo complexo de replicação, por mecanismos ainda não esclarecidos (Elazar *et al.*, 2003; Pawlotsky, 2013).

Os fármacos daclatasvir, ledipasvir e ombistavir são inibidores da proteína NS5A, cuja taxa de RVS é cerca de 90 a 100%. O daclatasvir é administrado em associação com o PegINF- $\alpha$ /RBV e com o SOF, o ledipasvir é administrado em associação como SOF e o

ombistavir é administrado em associação com o paritaprevir e oritonavir (Viekirax®). Esta classe de inibidores são ativos nos vírus de genótipo 1 e 4, sendo o daclatasvir também ativo para os vírus de genótipo 2 e 3. A fadiga é o efeito secundário comum aos três inibidores (Afdhal *et al.*, 2014; European Medicines Agency, 2014, 2014, 2015; Sulkowski *et al.*, 2014).

### 3.3. Inibidores da proteína NS5B

Os inibidores da proteína NS5B atuam na RpRd, impedindo a replicação do RNA viral. Esta classe de fármacos é formada por dois grupos: inibidores nucleotídicos/nucleosídicos e inibidores não nucleosídicos. Os inibidores nucleotídicos/nucleosídicos funcionam como falsos substratos, ligando-se ao centro catalítico da enzima RpRd. Os inibidores não nucleosídicos ligam-se fora do local ativo da enzima, estabelecendo uma ligação nos locais alostéricos da superfície da proteína. Consequentemente, ocorre alteração conformacional da RpRd, bloqueando a replicação do genoma viral. De acordo com o domínio de ligação, estes inibidores são divididos em quatro subgrupos: inibidores do domínio *thumb I*, *thumb II*, *palm I* e *palm II* (Haudecoeur *et al.*, 2013; Pawlotsky, 2014).

Atualmente, o SOF é um análogo de nucleótido e necessita de duas fosforilações para ser ativo. Este fármaco é administrado em associação com PegINF- $\alpha$ / RBV ou com outros AADs, obtendo uma taxa de RVS acima dos 90%, para todos os genótipos (Lawitz *et al.*, 2013; Zeuzem *et al.*, 2014). O dasabuvir é um inibidor do domínio *palm I* que é utilizado em associação com a RBV e Viekirax® para o genótipo 1, como uma taxa de RVS superior a 90%. A manifestação de efeitos secundários está associada aos fármacos administrados em associação ao SOF e ao dasabuvir (European Medicines Agency, 2014, 2015).

## 4. Resposta ao tratamento

A resposta ao tratamento pode ser avaliada com base na resposta virológica, através do desaparecimento ou redução do RNA viral; resposta bioquímica, por normalização da alanina aminotransferase; e resposta histológica, pela redução da atividade histológica em pelo menos dois pontos, em comparação à biópsia realizada antes do tratamento. No entanto, a resposta virológica é o parâmetro mais seguro e consistente na monitorização e na avaliação da eficácia do tratamento. Assim, o tratamento é eficaz quando ocorre uma RVS, ou seja, quando o nível de RNA viral permanece indetetável à 24ª semana (6 meses) após o final do tratamento, diminuindo o risco de progressão de cirrose e do desenvolvimento do carcinoma hepatocelular (Ghany *et al.*, 2009).

## FATORES QUE INFLUENCIAM A RESPOSTA À TERAPÊUTICA

A resposta à terapêutica é condicionada por fatores virais e fatores do hospedeiro, cuja identificação permite orientar a decisão terapêutica. A avaliação do doente inclui a determinação do genótipo do VHC, a carga viral inicial e possíveis polimorfismos que comprometam a eficácia dos fármacos.

### I. Fatores Virais

#### I.1. Genótipo

Os fármacos e suas respectivas associações apresentam diferentes taxas de resposta para diferentes genótipos. Tendo em consideração o genótipo do vírus, é possível identificar quais os fármacos ativos para o genótipo com uma taxa de resposta mais favorável. Verifica-se que doentes infectados com VHC de genótipo 2 e 3 têm taxas de RVS superiores (65-80%) aos doentes infectados com o vírus de genótipo 1 e 4 (40-50%), quando submetidos ao tratamento de combinação PegINF- $\alpha$ /RBV (Deutsch e Hadziyannis, 2008). Por outro lado, a associação de ledipasvir com o SOF, além de apresentar uma taxa de resposta elevada, só é ativa para os genótipos 1 e 4 do vírus.

#### I.2. Carga viral

A carga viral é um parâmetro de monitorização importante, tanto na fase de diagnóstico como durante e após o tratamento. Este parâmetro é normalmente determinado na 4<sup>a</sup>, 12<sup>a</sup> e 24<sup>a</sup> semana do tratamento e na 24<sup>a</sup> semana após o fim do tratamento. A taxa de resposta tende a ser mais elevada em doentes com uma carga viral inicial inferior a 600000-800000UI/mL (Ghany *et al.*, 2009; Hadziyannis, 2004; Wagner, von *et al.*, 2005).

#### I.3. Heterogeneidade em *quasi*-espécies

O grau de mutações espontâneas nas regiões hipervariáveis conduz à alteração constante de epítopes e, conseqüentemente, à heterogeneidade em *quasi*-espécies. Esta característica confere vantagem ao vírus, conduzindo à persistência da infeção e diminuindo a resposta à terapêutica (Polyak *et al.*, 1998; Simmonds, 2004).

Por outro lado, estudos *in vitro* demonstram que a presença de mutações nos genes que codificam as proteínas-alvo dos AADs permitem a ocorrência de resistências aos fármacos inibidores das proteínas NS3/4A, NS5A e NS5B. Por exemplo, a resistência ao simeprevir

está associada ao polimorfismo Q80K no gene que codifica a protease NS3 (Lenz *et al.*, 2010).

## 2. Fatores do Hospedeiro

### 2.1. Grupo étnico

Os diferentes grupos étnicos apresentam diferentes taxas de eliminação do VHC. Este fator está relacionado não só com o polimorfismo de genes do hospedeiro, mas também com o genótipo do vírus, visto que os diferentes genótipos estão distribuídos de forma específica na população mundial.

### 2.2. Polimorfismo de genes

A variação genética individual pode influenciar a resposta à terapêutica, devido à presença de alelos protetores ou de risco. A estratégia de estudo GWAS (*Genome Wide Association Studies*) baseia-se na análise global do genoma do doente através da genotipagem de polimorfismos ao nível de um nucleótido (SNP - *single nucleotide polymorphisms*) em associação com variantes genéticas comuns do genoma humano (Pearson e Manolio, 2008).

Vários SNP específicos influenciam a resposta a uma terapêutica específica, tais como o polimorfismo do gene IL28B, o polimorfismo do gene da bomba exportadora de sais biliares e o polimorfismo do gene do recetor da vitamina D (Pearson e Manolio, 2008).

Alguns estudos constataam que a resposta à terapêutica pode também estar relacionada com polimorfismos dos genes que codificam apolipoproteínas, interferindo com o transporte do vírus na corrente sanguínea. Contudo, estes estudos apresentam alguma controvérsia pelas conclusões contraditórias (Romero-Gomez *et al.*, 2011).

#### 2.2.1. Polimorfismo do gene IL28B

O gene IL28B codifica a interleucina-28B (INF- $\lambda$ 3) e localiza-se no cromossoma 19. Com uma localização próxima do gene IL28B, vários SNP têm sido associados à resposta da terapêutica de combinação PeglN/ RBV, em doentes infetados com VHC de diferentes grupos étnicos (Sheppard *et al.*, 2003).

O SNP rs12979860 é bi-alélico (C/T) e está localizado a 3kb a montante do gene IL28B. Apesar do mecanismo envolvido não ser ainda conhecido, julga-se que ocorre interferência com os níveis de expressão da IL28B. Verifica-se que os doentes com genótipo CC apresentam uma probabilidade superior de responder com sucesso à terapêutica, em relação

aos indivíduos portadores do genótipo TT ou CT. Também se constata que o alelo protetor C está presente com uma maior prevalência na população asiática, uma prevalência intermédia nos caucasianos e uma baixa prevalência na população africana (Ge *et al.*, 2009; Thomas *et al.*, 2009). Por outro lado, verifica-se que o genótipo CC apresenta uma maior frequência de RVS em doentes infetados com genótipo 2 e 3, face aos doentes portadores de genótipo 1 (Sarrazin *et al.*, 2011).

O SNP rs8099917 é bi-alélico (T/G), localiza-se a 8.9 kb a montante do gene IL28B e apresenta os genótipos TT, TG e GG. O genótipo TT tem uma maior probabilidade de resolver a infeção face aos outros dois genótipos, em doentes infetados com o vírus do genótipo 1 e submetidos à terapêutica de combinação PegINF com RBV (Suppiah *et al.*, 2009; Tanaka *et al.*, 2009).

### 2.2.2. Polimorfismo do gene da bomba exportadora de sais biliares

A bomba exportadora de sais biliares (BESB) é uma proteína responsável pelo transporte dos sais biliares do hepatócito para os canais biliares. O gene ABCB11 (ATP-binding cassette, subfamília B, membro 11) codifica esta proteína e está associado a um polimorfismo caracterizado pela transição de 1331T para 1331C. O alelo 1331C está associado à diminuição da expressão da BESB, que conduz à redução da secreção de sais biliares e, como resultado, ao aumento do nível de sais biliares a nível hepático (Iwata *et al.*, 2011; Meier *et al.*, 2008). O nível elevado de ácidos biliares parece estimular a replicação do vírus e comprometer a resposta à terapêutica de associação PegINF/RBV, em doentes infetados com o genótipo 1 do VHC (Chang e George, 2007; Jorquera *et al.*, 2005).

Por outro lado, a acumulação de sais biliares a nível hepatocelular desencadeia o aumento de citocinas inflamatórias, que favorece a evolução de fibrose hepática (Iwata *et al.*, 2011).

### 2.2.3. Polimorfismo do gene do recetor da vitamina D

A vitamina D parece exercer um efeito imunomodulador em resposta à infeção pelo VHC. Esta vitamina quando associada ao regime de combinação PegINF- $\alpha$ 2b/RBV, em doentes infetados com o VHC de genótipo 1, parece melhorar a resposta à terapêutica (Abu-Mouch *et al.*, 2011; Gutierrez, Parikh e Branch, 2011).

Em relação ao polimorfismo do gene do recetor da vitamina D, o SNP rs 2228570 bi-alélico (G/T) influencia a resposta à terapêutica de combinação PegINF/RBV, em doentes

infetados com o genótipo 1 e 4. Verifica-se que os doentes portadores do genótipo T/T apresentam uma taxa de RVS superior aos doentes portadores dos genótipos T/G e G/G (García-Martín *et al.*, 2013).

### 2.3. Outros fatores

Além dos polimorfismos e das diferentes etnias, outros fatores do hospedeiro podem influenciar negativamente a taxa de resposta ao tratamento, nomeadamente: sexo masculino, idade superior a 40/45 anos no momento da infeção, história de abuso de álcool, coinfeção com o vírus da hepatite B e VIH, obesidade, metabolismo lipídico anormal, cirrose ou fibrose hepática avançada no início de tratamento, utilizadores de drogas intravenosas, baixa tolerância e não cumprimento do tratamento (Asselah *et al.*, 2010; Moucari *et al.*, 2008).

A descoberta dos antivíricos de ação direta revolucionou o tratamento administrado aos doentes com hepatite C, uma vez que são mais eficazes e toleráveis do que a terapêutica de combinação PegINF/RBV. Além disso, novas moléculas estão em fase de desenvolvimento clínico, permitindo a disponibilização de novos fármacos nos próximos anos.

A evolução da terapêutica para a hepatite C deve ser direcionada para regimes terapêuticos com uma boa relação de custo, efetividade e segurança. A investigação clínica deve focar-se em estudo de novos regimes terapêuticos, nomeadamente regimes de combinação de ADDs e regimes sem inclusão do INF ou da RBV. Além disso, o follow-up dos fármacos com Autorização de Introdução no Mercado é fulcral, permitindo a monitorização contínua da segurança dos doentes.

A resposta à terapêutica é influenciada por diversos fatores que podem servir como preditores da resposta à terapêutica. Muitos dos polimorfismos conhecidos que interferem com a resposta à terapêutica estão associados à terapêutica de combinação PegINF/RBV. Desta forma, o estudo de polimorfismos deve direcionar-se também para a sua relação com a resposta à terapêutica dos novos fármacos. Contudo, a investigação dirigida aos fatores virais e do hospedeiro deve ser mantida, com base nos diferentes fármacos, genótipos, grupos étnicos e em situações clínicas especiais, como a presença de coinfeções e doentes hemodialisados, transplantados e/ou com outras patologias.

## G. Referências Bibliográficas

- ABU-MOUCH, Saif *et al.* - Vitamin D supplementation improves sustained virologic response in chronic hepatitis C (genotype 1)-naïve patients. **World journal of gastroenterology: WJG**. . ISSN 2219-2840. 17:47 (2011) 5184–90. doi: 10.3748/wjg.v17.i47.5184.
- AFDHAL, Nezam *et al.* - Ledipasvir and sofosbuvir for untreated HCV genotype 1 infection. **The New England journal of medicine**. . ISSN 1533-4406. 370:20 (2014) 1889–98. doi: 10.1056/NEJMoal402454.
- AGENCY, European Medicines - **Resumo do EPAR destinado ao público - Olysio, Simeprevir** [Em linha]. 30 Churchill Place, London E14 5EU, United Kingdom : [s.n.], atual. 2015. [Consult. 12 mai. 2015]. Disponível em WWW:<URL:http://www.ema.europa.eu/docs/pt\_PT/document\_library/EPAR\_-\_Summary\_for\_the\_public/human/002777/WC500167869.pdf>.
- AGNELLO, V. *et al.* - Hepatitis C virus and other flaviviridae viruses enter cells via low density lipoprotein receptor. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. . ISSN 0027-8424. 96:22 (1999) 12766–71.
- ANK, Nina *et al.* - Lambda interferon (IFN-lambda), a type III IFN, is induced by viruses and IFNs and displays potent antiviral activity against select virus infections in vivo. **Journal of virology**. . ISSN 0022-538X. 80:9 (2006) 4501–9. doi: 10.1128/JVI.80.9.4501-4509.2006.
- ASHFAQ, Usman A. *et al.* - An overview of HCV molecular biology, replication and immune responses. **Virology journal**. . ISSN 1743-422X. 8:2011) 161. doi: 10.1186/1743-422X-8-161.
- ASSELAH, Tarik *et al.* - Hepatitis C: viral and host factors associated with non-response to pegylated interferon plus ribavirin. **Liver international: official journal of the International Association for the Study of the Liver**. . ISSN 1478-3231. 30:9 (2010) 1259–69. doi: 10.1111/j.1478-3231.2010.02283.x.
- BACKMUND, Markus *et al.* - Hepatitis C virus infection and injection drug users: prevention, risk factors, and treatment. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**. . ISSN 1537-6591. 40 Suppl 5:Supplement\_5 (2005) S330–5. doi: 10.1086/427475.
- BACON, Bruce R. *et al.* - Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. **The New England journal of medicine**. . ISSN 1533-4406. 364:13 (2011) 1207–17. doi: 10.1056/NEJMoal009482.
- BARTENSCHLAGER, Ralf; FRESE, Michael; PIETSCHMANN, Thomas - Novel insights into hepatitis C virus replication and persistence. **Advances in virus research**. . ISSN 0065-3527. 63:2004) 71–180. doi: 10.1016/S0065-3527(04)63002-8.

- BARTH, Heidi *et al.* - Cellular binding of hepatitis C virus envelope glycoprotein E2 requires cell surface heparan sulfate. **The Journal of biological chemistry**. . ISSN 0021-9258. 278:42 (2003) 41003–12. doi: 10.1074/jbc.M302267200.
- BLANCHARD, Emmanuelle *et al.* - Hepatitis C virus-like particle budding: role of the core protein and importance of its Asp111. **Journal of virology**. . ISSN 0022-538X. 77:18 (2003) 10131–8.
- BLANCHARD, Emmanuelle *et al.* - Hepatitis C virus entry depends on clathrin-mediated endocytosis. **Journal of virology**. . ISSN 0022-538X. 80:14 (2006) 6964–72. doi: 10.1128/JVI.00024-06.
- BRUIJNE, J. DE *et al.* - New developments in the antiviral treatment of hepatitis C. **Vox sanguinis**. . ISSN 1423-0410. 97:1 (2009) 1–12. doi: 10.1111/j.1423-0410.2009.01187.x.
- CACOUB, Patrice *et al.* - Dermatological side effects of hepatitis C and its treatment: patient management in the era of direct-acting antivirals. **Journal of hepatology**. . ISSN 1600-0641. 56:2 (2012) 455–63. doi: 10.1016/j.jhep.2011.08.006.
- CHANG, Kyeong-Ok; GEORGE, David W. - Bile acids promote the expression of hepatitis C virus in replicon-harboring cells. **Journal of virology**. . ISSN 0022-538X. 81:18 (2007) 9633–40. doi: 10.1128/JVI.00795-07.
- CHOO, Q. L. *et al.* - Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. **Science (New York, N.Y.)**. . ISSN 0036-8075. 244:4902 (1989) 359–62.
- CROTTY, S. *et al.* - The broad-spectrum antiviral ribonucleoside ribavirin is an RNA virus mutagen. **Nature medicine**. . ISSN 1078-8956. 6:12 (2000) 1375–9. doi: 10.1038/82191.
- DELEMOS, Andrew S.; CHUNG, Raymond T. - Hepatitis C treatment: an incipient therapeutic revolution. **Trends in molecular medicine**. . ISSN 1471-499X. 20:6 (2014) 315–21. doi: 10.1016/j.molmed.2014.02.002.
- DEUTSCH, M.; HADZIYANNIS, S. J. - Old and emerging therapies in chronic hepatitis C: an update. **Journal of viral hepatitis**. . ISSN 1352-0504. 15:1 (2008) 2–11. doi: 10.1111/j.1365-2893.2007.00887.x.
- DIENSTAG, Jules L.; DELEMOS, Andrew S. - 119 – Viral Hepatitis. Em **Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases** [Em linha]. Eighth Edition ed. [S.l.] : Elsevier Inc., 2015 Disponível em WWW:<URL:http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781455748013001193>. ISBN 9781455748013. p. 1439–1468.e7.
- DONNELLY, Raymond P.; DICKENSHEETS, Harold; O'BRIEN, Thomas R. - Interferon-lambda and therapy for chronic hepatitis C virus infection. **Trends in immunology**. . ISSN 1471-4981. 32:9 (2011) 443–50. doi: 10.1016/j.it.2011.07.002.



EGGER, Denise *et al.* - Expression of hepatitis C virus proteins induces distinct membrane alterations including a candidate viral replication complex. **Journal of virology**. . ISSN 0022-538X. 76:12 (2002) 5974–84.

ELAZAR, Menashe *et al.* - Amphipathic helix-dependent localization of NS5A mediates hepatitis C virus RNA replication. **Journal of virology**. . ISSN 0022-538X. 77:10 (2003) 6055–61.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY - **Resumo do EPAR destinado ao público - Incivo, Telaprevir** [Em linha], atual. 2013. [Consult. 10 mai. 2015]. Disponível em WWW:<URL:http://www.ema.europa.eu/docs/pt\_PT/document\_library/EPAR\_-\_Summary\_for\_the\_public/human/002313/WC500115507.pdf>.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY - **Resumo do EPAR destinado ao público - Daklinza, daclatasvir** [Em linha], atual. 2014. [Consult. 10 mai. 2015]. Disponível em WWW:<URL:http://www.ema.europa.eu/docs/pt\_PT/document\_library/EPAR\_-\_Summary\_for\_the\_public/human/003768/WC500172850.pdf>.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY - **Resumo do EPAR destinado ao público - Harvoni ledipasvir / sofosbuvir** [Em linha], atual. 2014. [Consult. 10 mai. 2015]. Disponível em WWW:<URL:http://www.ema.europa.eu/docs/pt\_PT/document\_library/EPAR\_-\_Summary\_for\_the\_public/human/003850/WC500177997.pdf>.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY - **Resumo do EPAR destinado ao público - Sovaldi, sofosbuvir** [Em linha], atual. 2014. [Consult. 12 mai. 2015]. Disponível em WWW:<URL:http://www.ema.europa.eu/docs/pt\_PT/document\_library/EPAR\_-\_Summary\_for\_the\_public/human/002798/WC500160599.pdf>.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY - **Resumo do EPAR destinado ao público - Viekirax ombitasvir / paritaprevir / ritonavir** [Em linha], atual. 2015. [Consult. 10 mai. 2015]. Disponível em WWW:<URL:http://www.ema.europa.eu/docs/pt\_PT/document\_library/EPAR\_-\_Summary\_for\_the\_public/human/003839/WC500184000.pdf>.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY - **Resumo do EPAR destinado ao público - Exviera, dasabuvir** [Em linha], atual. 2015. [Consult. 12 mai. 2015]. Disponível em WWW:<URL:http://www.ema.europa.eu/docs/pt\_PT/document\_library/EPAR\_-\_Summary\_for\_the\_public/human/003837/WC500182236.pdf>.

EVANS, Matthew J. *et al.* - Claudin-I is a hepatitis C virus co-receptor required for a late step in entry. **Nature**. . ISSN 1476-4687. 446:7137 (2007) 801–5. doi: 10.1038/nature05654.

FEINSTONE, S. M. *et al.* - Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. **The New England journal of medicine**. . ISSN 0028-4793. 292:15 (1975) 767–70. doi: 10.1056/NEJM197504102921502.

- FELD, Jordan J. *et al.* - Hepatic gene expression during treatment with peginterferon and ribavirin: Identifying molecular pathways for treatment response. **Hepatology (Baltimore, Md.)**. . ISSN 1527-3350. 46:5 (2007) 1548–63. doi: 10.1002/hep.21853.
- FERRI, Fred F. - Hepatic infections. Em **Ferri's Color Atlas and Text of Clinical Medicine** [Em linha]. Philadelphia, Pa.; London : Saunders, 2009 Disponível em WWW:<URL:http://www.crossref.org/deleted\_DOI.html>. ISBN 9781416049197. p. 633–642.
- FRIED, Michael W. *et al.* - Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. **The New England journal of medicine**. . ISSN 1533-4406. 347:13 (2002) 975–82. doi: 10.1056/NEJMoa020047.
- GARCÍA-MARTÍN, Elena *et al.* - Influence of vitamin D-related gene polymorphisms (CYP27B and VDR) on the response to interferon/ribavirin therapy in chronic hepatitis C. **PloS one**. . ISSN 1932-6203. 8:9 (2013) e74764. doi: 10.1371/journal.pone.0074764.
- GE, Dongliang *et al.* - Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. **Nature**. . ISSN 0028-0836. 461:7262 (2009) 399–401. doi: 10.1038/nature08309.
- GHANY, Marc G. *et al.* - Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. **Hepatology (Baltimore, Md.)**. . ISSN 1527-3350. 49:4 (2009) 1335–74. doi: 10.1002/hep.22759.
- GRAKOU, A. *et al.* - Characterization of the hepatitis C virus-encoded serine proteinase: determination of proteinase-dependent polyprotein cleavage sites. **Journal of virology**. . ISSN 0022-538X. 67:5 (1993) 2832–43.
- GUTIERREZ, Julio A.; PARIKH, Neil; BRANCH, Andrea D. - Classical and emerging roles of vitamin D in hepatitis C virus infection. **Seminars in liver disease**. . ISSN 1098-8971. 31:4 (2011) 387–98. doi: 10.1055/s-0031-1297927.
- HADZIYANNIS, Stephanos J. - Peginterferon- $\alpha$ 2a and Ribavirin Combination Therapy in Chronic Hepatitis C. **Annals of Internal Medicine**. . ISSN 0003-4819. 140:5 (2004) 346. doi: 10.7326/0003-4819-140-5-200403020-00010.
- HAUDECOEUR, Romain *et al.* - Structure-activity relationships in the development of allosteric hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase inhibitors: ten years of research. **Medicinal research reviews**. . ISSN 1098-1128. 33:5 (2013) 934–84. doi: 10.1002/med.21271.
- HELLE, F.; DUBUISSON, J. - Hepatitis C virus entry into host cells. **Cellular and molecular life sciences: CMLS**. . ISSN 1420-682X. 65:1 (2008) 100–12. doi: 10.1007/s00018-007-7291-8.
- HONDA, M. *et al.* - Structural requirements for initiation of translation by internal ribosome entry within genome-length hepatitis C virus RNA. **Virology**. . ISSN 0042-6822. 222:1 (1996) 31–42. doi: 10.1006/viro.1996.0395.

- HONEGGER, Jonathan R.; ZHOU, Yan; WALKER, Christopher M. - Will there be a vaccine to prevent HCV infection? **Seminars in liver disease**. . ISSN 1098-8971. 34:1 (2014) 79–88. doi: 10.1055/s-0034-1371081.
- INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento - Copegus 200mg** [Em linha], atual. 2014. [Consult. 13 mai. 2015]. Disponível em WWW:<URL:http://www.infarmed.pt/infomed/download\_ficheiro.php?med\_id=34365&tipo\_doc=rcm>.
- IWATA, Rika *et al.* - A common polymorphism in the ABCB11 gene is associated with advanced fibrosis in hepatitis C but not in non-alcoholic fatty liver disease. **Clinical science (London, England: 1979)**. . ISSN 1470-8736. 120:7 (2011) 287–96. doi: 10.1042/CS20100246.
- JACOBSON, Ira M. *et al.* - Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. **The New England journal of medicine**. . ISSN 1533-4406. 364:25 (2011) 2405–16. doi: 10.1056/NEJMoa1012912.
- Jl, Hong *et al.* - Coordinated assembly of human translation initiation complexes by the hepatitis C virus internal ribosome entry site RNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. . ISSN 0027-8424. 101:49 (2004) 16990–5. doi: 10.1073/pnas.0407402101.
- JORQUERA, Francisco *et al.* - Usefulness of combined measurement of serum bile acids and ferritin as additional prognostic markers to predict failure to reach sustained response to antiviral treatment in chronic hepatitis C. **Journal of gastroenterology and hepatology**. . ISSN 0815-9319. 20:4 (2005) 547–54. doi: 10.1111/j.1440-1746.2005.03725.x.
- KAITO, M. *et al.* - Hepatitis C virus particle detected by immunoelectron microscopic study. **The Journal of general virology**. . ISSN 0022-1317. 75 ( Pt 7):1994) 1755–60.
- KIEFT, J. S. *et al.* - Mechanism of ribosome recruitment by hepatitis C IRES RNA. **RNA (New York, N.Y.)**. . ISSN 1355-8382. 7:2 (2001) 194–206.
- LAUER, G. M.; WALKER, B. D. - Hepatitis C virus infection. **The New England journal of medicine**. . ISSN 0028-4793. 345:1 (2001) 41–52. doi: 10.1056/NEJM200107053450107.
- LAWITZ, Eric *et al.* - Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. **The New England journal of medicine**. . ISSN 1533-4406. 368:20 (2013) 1878–87. doi: 10.1056/NEJMoa1214853.
- LENZ, Oliver *et al.* - In vitro resistance profile of the hepatitis C virus NS3/4A protease inhibitor TMC435. **Antimicrobial agents and chemotherapy**. . ISSN 1098-6596. 54:5 (2010) 1878–87. doi: 10.1128/AAC.01452-09.
- LINDENBACH, Brett D.; RICE, Charles M. - The ins and outs of hepatitis C virus entry and assembly. **Nature reviews. Microbiology**. . ISSN 1740-1534. 11:10 (2013) 688–700. doi: 10.1038/nrmicro3098.

- MAAG, D. *et al.* - Hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase (NS5B) as a mediator of the antiviral activity of ribavirin. **The Journal of biological chemistry**. . ISSN 0021-9258. 276:49 (2001) 46094–8. doi: 10.1074/jbc.C100349200.
- MANNING, Michael P. *et al.* - Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. **The Lancet**. . ISSN 01406736. 358:9286 (2001) 958–965. doi: 10.1016/S0140-6736(01)06102-5.
- MARCELLO, Tobias *et al.* - Interferons alpha and lambda inhibit hepatitis C virus replication with distinct signal transduction and gene regulation kinetics. **Gastroenterology**. . ISSN 0016-5085. 131:6 (2006) 1887–98. doi: 10.1053/j.gastro.2006.09.052.
- MATTHEWS-GREER, J. M. *et al.* - Comparison of hepatitis C viral loads in patients with or without human immunodeficiency virus. **Clinical and diagnostic laboratory immunology**. . ISSN 1071-412X. 8:4 (2001) 690–4. doi: 10.1128/CDLI.8.4.690-694.2001.
- MEIER, Yvonne *et al.* - Increased susceptibility for intrahepatic cholestasis of pregnancy and contraceptive-induced cholestasis in carriers of the I331T>C polymorphism in the bile salt export pump. **World journal of gastroenterology : WJG**. . ISSN 1007-9327. 14:1 (2008) 38–45.
- MONAZAHIAN, M. *et al.* - Low density lipoprotein receptor as a candidate receptor for hepatitis C virus. **Journal of medical virology**. . ISSN 0146-6615. 57:3 (1999) 223–9. doi: 10.1002/(SICI)1096-9071(199903)57:3<223::AID-JMV2>3.0.CO;2-4.
- MOUCARI, Rami *et al.* - Insulin resistance in chronic hepatitis C: association with genotypes 1 and 4, serum HCV RNA level, and liver fibrosis. **Gastroenterology**. . ISSN 1528-0012. 134:2 (2008) 416–23. doi: 10.1053/j.gastro.2007.11.010.
- ONOGUCHI, Kazuhide *et al.* - Viral infections activate types I and III interferon genes through a common mechanism. **The Journal of biological chemistry**. . ISSN 0021-9258. 282:10 (2007) 7576–81. doi: 10.1074/jbc.M608618200.
- OTTO, Geoff A.; PUGLISI, Joseph D. - The pathway of HCV IRES-mediated translation initiation. **Cell**. . ISSN 0092-8674. 119:3 (2004) 369–80. doi: 10.1016/j.cell.2004.09.038.
- PAWLOTSKY, Jean-Michel - NS5A inhibitors in the treatment of hepatitis C. **Journal of hepatology**. . ISSN 1600-0641. 59:2 (2013) 375–82. doi: 10.1016/j.jhep.2013.03.030.
- PAWLOTSKY, Jean-Michel - New hepatitis C therapies: the toolbox, strategies, and challenges. **Gastroenterology**. . ISSN 1528-0012. 146:5 (2014) 1176–92. doi: 10.1053/j.gastro.2014.03.003.
- PAWLOTSKY, Jean-Michel; CHEVALIEZ, Stéphane; MCHUTCHISON, John G. - The hepatitis C virus life cycle as a target for new antiviral therapies. **Gastroenterology**. . ISSN 0016-5085. 132:5 (2007) 1979–98. doi: 10.1053/j.gastro.2007.03.116.

- PEARSON, Thomas A.; MANOLIO, Teri A. - How to interpret a genome-wide association study. **JAMA**. . ISSN 1538-3598. 299:11 (2008) 1335–44. doi: 10.1001/jama.299.11.1335.
- PENIN, François *et al.* - Structural biology of hepatitis C virus. **Hepatology (Baltimore, Md.)**. . ISSN 0270-9139. 39:1 (2004) 5–19. doi: 10.1002/hep.20032.
- PENIN, François *et al.* - Structure and function of the membrane anchor domain of hepatitis C virus nonstructural protein 5A. **The Journal of biological chemistry**. . ISSN 0021-9258. 279:39 (2004) 40835–43. doi: 10.1074/jbc.M404761200.
- PILERI, P. - Binding of Hepatitis C Virus to CD81. **Science**. 282:5390 (1998) 938–941. doi: 10.1126/science.282.5390.938.
- POLYAK, S. J. *et al.* - Evolution of hepatitis C virus quasispecies in hypervariable region I and the putative interferon sensitivity-determining region during interferon therapy and natural infection. **Journal of virology**. . ISSN 0022-538X. 72:5 (1998) 4288–96.
- POORDAD, Fred *et al.* - Effects of ribavirin dose reduction vs erythropoietin for boceprevir-related anemia in patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection--a randomized trial. **Gastroenterology**. . ISSN 1528-0012. 145:5 (2013) 1035–1044.e5. doi: 10.1053/j.gastro.2013.07.051.
- PUIG, Montserrat *et al.* - CD4+ immune escape and subsequent T-cell failure following chimpanzee immunization against hepatitis C virus. **Hepatology (Baltimore, Md.)**. . ISSN 0270-9139. 44:3 (2006) 736–45. doi: 10.1002/hep.21319.
- RAY, Stuart C.; THOMAS, David L. - 156 – Hepatitis C. Em **Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases** [Em linha] Disponível em WWW:<URL:<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781455748013001569>>. ISBN 9781455748013. p. 1904–1927.e9.
- ROMERO-GOMEZ, Manuel *et al.* - Genes and hepatitis C: susceptibility, fibrosis progression and response to treatment. **Liver international: official journal of the International Association for the Study of the Liver**. . ISSN 1478-3231. 31:4 (2011) 443–60. doi: 10.1111/j.1478-3231.2011.02449.x.
- SARRAZIN, Christoph *et al.* - Importance of IL28B gene polymorphisms in hepatitis C virus genotype 2 and 3 infected patients. **Journal of hepatology**. . ISSN 1600-0641. 54:3 (2011) 415–21. doi: 10.1016/j.jhep.2010.07.041.
- SCARSELLI, Elisa *et al.* - The human scavenger receptor class B type I is a novel candidate receptor for the hepatitis C virus. **The EMBO journal**. . ISSN 0261-4189. 21:19 (2002) 5017–25.
- SHEPPARD, Paul *et al.* - IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R. **Nature immunology**. . ISSN 1529-2908. 4:1 (2003) 63–8. doi: 10.1038/ni873.

- SIMMONDS, P. - The origin and evolution of hepatitis viruses in humans. **The Journal of general virology**. . ISSN 0022-1317. 82:Pt 4 (2001) 693–712.
- SIMMONDS, Peter - Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus--15 years on. **The Journal of general virology**. . ISSN 0022-1317. 85:Pt 11 (2004) 3173–88. doi: 10.1099/vir.0.80401-0.
- SIMMONDS, Peter *et al.* - Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. **Hepatology (Baltimore, Md.)**. . ISSN 0270-9139. 42:4 (2005) 962–73. doi: 10.1002/hep.20819.
- SMITH, Donald B. *et al.* - Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. **Hepatology (Baltimore, Md.)**. . ISSN 1527-3350. 59:1 (2014) 318–27. doi: 10.1002/hep.26744.
- SULKOWSKI, M. - Hepatitis C Infection. Em **AIDS Therapy**. Philadelphia : Elsevier, 2008. p. 939 – 952.
- SULKOWSKI, Mark S. *et al.* - Daclatasvir plus sofosbuvir for previously treated or untreated chronic HCV infection. **The New England journal of medicine**. . ISSN 1533-4406. 370:3 (2014) 211–21. doi: 10.1056/NEJMoa1306218.
- SUPPIAH, Vijayaprakash *et al.* - IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. **Nature genetics**. . ISSN 1546-1718. 41:10 (2009) 1100–4. doi: 10.1038/ng.447.
- TAM, Robert C. *et al.* - Ribavirin polarizes human T cell responses towards a Type 1 cytokine profile. **Journal of Hepatology**. . ISSN 01688278. 30:3 (1999) 376–382. doi: 10.1016/S0168-8278(99)80093-2.
- TANAKA, Yasuhito *et al.* - Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. **Nature genetics**. . ISSN 1546-1718. 41:10 (2009) 1105–9. doi: 10.1038/ng.449.
- TELLINGHUISEN, Timothy L.; MARCOTRIGIANO, Joseph; RICE, Charles M. - Structure of the zinc-binding domain of an essential component of the hepatitis C virus replicase. **Nature**. . ISSN 1476-4687. 435:7040 (2005) 374–9. doi: 10.1038/nature03580.
- THOMAS, David L. *et al.* - Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. **Nature**. . ISSN 0028-0836. 461:7265 (2009) 798–801. doi: 10.1038/nature08463.
- TILG, H. - New insights into the mechanisms of interferon alfa: An immunoregulatory and anti-inflammatory cytokine. **Gastroenterology**. . ISSN 00165085. 112:3 (1997) 1017–1021. doi: 10.1053/gast.1997.v112.pm9041265.
- VOISSET, Cécile *et al.* - High density lipoproteins facilitate hepatitis C virus entry through the scavenger receptor class B type I. **The Journal of biological chemistry**. . ISSN 0021-9258. 280:9 (2005) 7793–9. doi: 10.1074/jbc.M411600200.

WAGNER, Michael VON *et al.* - Peginterferon-alpha-2a (40KD) and ribavirin for 16 or 24 weeks in patients with genotype 2 or 3 chronic hepatitis C. **Gastroenterology**. . ISSN 0016-5085. 129:2 (2005) 522–7. doi: 10.1016/j.gastro.2005.05.008.

WEI, Lai; LOK, Anna S. F. - Impact of new hepatitis C treatments in different regions of the world. **Gastroenterology**. . ISSN 1528-0012. 146:5 (2014) 1145–50.e1–4. doi: 10.1053/j.gastro.2014.03.008.

ZEUZEM, Stefan *et al.* - Sofosbuvir and ribavirin in HCV genotypes 2 and 3. **The New England journal of medicine**. . ISSN 1533-4406. 370:21 (2014) 1993–2001. doi: 10.1056/NEJMoa1316145.