



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

ISABELLA PATRÍCIA LIMA SILVA

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA AO TRATAMENTO COM OS ANTIVIRAIS DE AÇÃO
DIRETA DE SEGUNDA GERAÇÃO EM PACIENTES COM HEPATITE C CRÔNICA
EM CENTROS DE REFERÊNCIA PARA HEPATITES VIRAIS NA CIDADE DE
RECIFE-PE**

RECIFE

2021

ISABELLA PATRÍCIA LIMA SILVA

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA AO TRATAMENTO COM OS ANTIVIRAIS DE AÇÃO
DIRETA DE SEGUNDA GERAÇÃO EM PACIENTES COM HEPATITE C CRÔNICA
EM CENTROS DE REFERÊNCIA PARA HEPATITES VIRAIS NA CIDADE DE
RECIFE-PE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Área de Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Medicina Tropical.

Área de Concentração: Medicina Tropical

Orientadora: Profa. Dra. Heloísa Ramos Lacerda de Melo

Coorientador: Profa. Dra. Andrea Doria Batista

RECIFE

2021

S586a Silva, Isabella Patrícia Lima

Avaliação da resposta ao tratamento com os antivirais de ação direta de segunda geração em pacientes com hepatite c crônica em centros de referência para hepatites virais na cidade de Recife-PE / Isabella Patrícia Lima Silva . – 2021.

171 f.; il.

Orientadora: Heloísa Ramos Lacerda de Melo.

Coorientadora: Andrea Dória Batista.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical. Recife, 2021.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Hepatite C. 2. Transplante de fígado. 3. Sofosbuvir. 4. Antivirais. I. Melo, Heloísa Ramos Lacerda de (orientadora). II. Batista, Andrea Dória. (coorientadora). III. Título.

616.9792 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2022 - 074)

ISABELLA PATRÍCIA LIMA SILVA

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA AO TRATAMENTO COM OS ANTIVIRAIS DE AÇÃO
DIRETA DE SEGUNDA GERAÇÃO EM PACIENTES COM HEPATITE C CRÔNICA
EM CENTROS DE REFERÊNCIA PARA HEPATITES VIRAIS NA CIDADE DE
RECIFE-PE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Área de Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Medicina Tropical.

Área de Concentração: Medicina Tropical

Aprovada: 03/09/2021

BANCA EXAMINADORA:

Prof^a.Dr^a. Heloísa Ramos Lacerda de Melo (Presidente da Banca/Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof^a. Dr^a. Líbia Cristina Rocha Vilela Moura (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Dr^a.Joelma Carvalho Santos (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Dr. Luís Henrique Bezerra Sette (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Dr^a. Norma Arteiro Filgueira (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

À minha família, meus pais, minha irmã e meu noivo por todo apoio, carinho e amor, por estarem sempre do meu lado em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por permitir e me dar forças para concluir mais uma jornada profissional.

Aos pacientes que aceitaram participar deste estudo, sem suas contribuições não seria possível realização do estudo.

Agradeço à orientadora, Profa. Dra. Heloisa Ramos Lacerda, por ter me acolhido como orientanda, pela oportunidade, e por todo apoio e confiança em mim depositada.

A coorientadora Dra. Andrea Doria Batista e ao Prof. Dr. Edmundo Lopes, sem eles não teria conseguido, agradeço pelo grande apoio e assessoria nesta pesquisa, pelos conhecimentos, incentivos, dedicação e aprendizado.

Aos Hepatologistas do Hospital Oswaldo Cruz-UTF e do IMIP: Dr. Bernardo Times, Dra. Norma Arteiro, Dr. Claudio Lacerda; Dr. Tibério Medeiros e Dra. Lilian Rose.

Às alunas de iniciação científica Clarissa Lacerda e Martha Sá, sem elas a pesquisa não aconteceria obrigada pela parceria.

A Joelma Carvalho que muito me ajudou com seus conhecimentos estatísticos, obrigada pela colaboração e gentileza.

Ao Dr. Kledoaldo Lima agradeço pelo apoio, conhecimentos e incentivos.

A todos que fazem o Programa Pós-Graduação de Medicina Tropical, um agradecimento especial ao Walter Galdino, pela colaboração, pela gentileza e serenidade. Muito obrigada!

À Universidade Federal de Pernambuco e à Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pela bolsa concedida.

RESUMO

A hepatite C crônica (HCC) é uma doença sistêmica que leva à fibrose hepática e causa complicações como: cirrose, carcinoma hepatocelular (CHC) e resulta na necessidade do transplante hepático. Os antivirais de ação direta (DAAs) de segunda geração representam um importante avanço no tratamento da HCC, mostram ser bem tolerados e seguros com taxas de resposta virológica sustentada (RVS) de mais de 95%. Vários métodos não invasivos são usados com sucesso na predição de fibrose, no entanto, pouco se sabe sobre os efeitos de longo prazo da RVS na redução do risco de progressão da doença hepática. O objetivo do estudo foi avaliar a efetividade dos esquemas DAAs nos transplantados de fígado e em não transplantados e avaliar a evolução dos marcadores laboratoriais aspartato (AST) e alanina (ALT) aminotransferases, contagem de plaquetas e índices APRI e FIB-4 após a RVS em pacientes tratados com os DAAs de segunda geração em dois estudos de vida real realizados no Nordeste do Brasil. Foram conduzidos dois estudos observacionais, ambos com componentes retrospectivo e prospectivo de vida real, descrevendo os achados de forma independente. No primeiro, foram incluídos 84 transplantados de fígado tratados com DAAs, em dois centros de referência, acompanhados por 12 a 24 semanas após RVS. A população apresentou idade média de $63,4 \pm 7,4$ anos, sendo o genótipo 1 o mais comum (63,1%), dos quais 22,7% apresentavam fibrose leve (METAVIR <F2) e 41 (48,8%) fibrose significativa (METAVIR $\geq$ F2). A taxa de RVS foi de 97,6%. O esquema sofosbuvir (SOF) + daclastavir (DCV) foi utilizado em 58 (69%) pacientes. Nenhum evento adverso relevante foi atribuído à terapia com DAAs. Houve redução significativa de ALT, AST, GGT, FA e do índice APRI a partir da semana 4 de tratamento, que se manteve até 12/24 semanas pós tratamento. No segundo estudo, trata-se de estudo observacional longitudinal, com componentes retrospectivo e prospectivo que incluiu indivíduos com diagnóstico de HCC, tratados com os DAAs. O tratamento mostrou-se efetivo, atingindo taxa de RVS de 97,8%. Dentre os 134 pacientes com RVS, houve redução da ALT e AST ($p < 0,001$) após 12 e 24 semanas do final do tratamento. Oitenta e três e 81 pacientes foram incluídos para avaliação do APRI e FIB-4, respectivamente. Após 24 semanas de tratamento, a proporção de pacientes com APRI $> 1,5$ reduziu de 31,3% para 3,6%, $p < 0,001$, enquanto a

proporção de pacientes com APRI < 0,5 aumentou de 22,9% para 63,9%, $p < 0,001$. Em relação ao FIB-4, houve redução da proporção de pacientes com FIB > 3,25 de 38,3% para 21%, $p=0,019$. O tratamento com DAAs em pacientes transplantados de fígado propiciou elevada taxa de RVS e normalização dos níveis séricos das transaminases ALT, AST, em consequência redução precoce dos escores APRI, FIB-4.

Palavras-chave: hepatite C; transplante de fígado; sofosbuvir; Antivirais.

ABSTRACT

Chronic hepatitis C (CHC) is a systemic disease that leads to liver fibrosis and causes complications such as cirrhosis, hepatocellular carcinoma (HCC) and results in the need for liver transplantation. Second-generation direct-acting antivirals (DAAs) represent an important advance in the treatment of CHC, showing to be well tolerated and safe with sustained virologic response rates (SVR) of more than 95%. Several non-invasive methods are used successfully to predict fibrosis, however, little is known about the long-term effects of SVR in reducing the risk of liver disease progression. The aim of the study was to evaluate the effectiveness of DAA schemes in liver transplant and non-transplant recipients and to evaluate the evolution of laboratory markers aspartate (AST) and alanine (ALT) aminotransferases, platelet counts and APRI and FIB-4 indices after SVR in patients treated with second-generation DAAs in two real-life studies carried out in Northeastern Brazil. Two observational studies were conducted, both with retrospective and prospective real-life components, describing the findings independently. In the first one, 84 liver transplant recipients treated with DAAs, in two reference centers, followed for 12 to 24 weeks after SVR were included. The population had a mean age of 63.4 ± 7.4 years, with genotype 1 being the most common (63.1%), of which 22.7% had mild fibrosis (METAVIR <F2) and 41 (48.8%) significant fibrosis (METAVIR $\geq$ F2). The SVR rate was 97.6%. The sofosbuvir (SOF) and daclatasvir (DCV) scheme was used in 58 (69%) patients. No relevant adverse events were attributed to DAA therapy. There was a significant reduction in ALT, AST, GGT, FA and APRI index from week 4 of treatment, which was maintained until 12/24 weeks post-treatment. In the second study, it was a longitudinal observational study, with retrospective and prospective components that included individuals diagnosed with HCC, treated with DAAs. The treatment proved to be effective, reaching an SVR rate of 97.8%. Among the 134 patients with SVR, there was a reduction in ALT and AST ($p < 0.001$) after 12 and 24 weeks of the end of treatment. Eighty-three and 81 patients were included for evaluation of the APRI and FIB-4, respectively. After 24 weeks of treatment, the proportion of patients with APRI > 1.5 decreased from 31.3% to 3.6%, $p < 0.001$, while the proportion of patients with APRI < 0.5 increased from 22.9% to 63.9%, $p < 0.001$. Regarding FIB-4, there was a reduction in the proportion of patients with FIB > 3.25 from 38.3% to 21%, $p = 0.019$. Treatment with DAAs in liver transplant patients

provided a high rate of SVR and normalization of serum levels of transaminases ALT, AST, resulting in an early reduction in APRI, FIB-4 scores.

Keywords: hepatitis C; Liver transplantation; Sofosbuvir; Antivirals.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1- Representação esquemática da distribuição da população do estudo47

ARTIGO 1

FIGURA 1- Comparação da atividade das enzimas hepáticas: ALP (UI/L); GGT (UI/L); ALT (UI/L); AST (UI/L), em diferentes momentos, antes do tratamento/linha de base (BA); semana 4 do tratamento (4W); final do tratamento (EoT); semana 12 pós-tratamento (PW12); e semana 24 pós-tratamento (PW24) de 84 pacientes transplantados de fígado com hepatite C crônica, tratados com sofosbuvir associado ao daclatasvir ou simeprevir. Todas as comparações são feitas Desvio Padrão/ Mediana (P_{25} - P_{75}) com os níveis da linha de base.74

FIGURA 2- Valores de APRI e FIB-4 em diferentes momentos, antes do tratamento/linha de base (BA); semana 4 do tratamento (4W); final do tratamento (EoT); semana 12 pós-tratamento (PW12); e semana 24 pós-tratamento (PW24) de 84 pacientes transplantados de fígado com hepatite C crônica, tratados com sofosbuvir associado ao daclatasvir ou simeprevir. (A) APRI. (B) FIB-4. Todas as comparações são feitas Desvio Padrão/ Mediana (P_{25} - P_{75}) com os níveis da linha de base.75

LISTA DE GRÁFICOS

ARTIGO 2

GRÁFICO 1- Aminotransferases e escores APRI e FIB-4 em pacientes com infecção pelo vírus da hepatite C, antes e após 12 e 24 do tratamento com os antivirais de ação direta de segunda geração, Recife / PE, 2015-2020.....95

GRÁFICO 2- Comparação dos escores APRI(N=85) e FIB4 (N=83), antes e após 24 semanas do tratamento com os antivirais de ação direta de segunda geração, em pacientes com infecção crônica pelo vírus da hepatite C tratados, Recife / PE, 2015-2020.....96

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- Classificação METAVIR baseada em achados de histologia hepática...	28
TABELA 2- Estudos brasileiros, que demonstram a resposta virológica sustentada (RVS) após tratamento com os esquemas de antivirais de ação direta de segunda geração em pacientes com hepatite C crônica publicados entre 2017 a 2021.	43
TABELA 3- Valor de Referência Hemoglobina e Bilirrubina Total.	52
TABELA 4- Tabela de categorização das variáveis independentes.....	53
TABELA 5- Valor de Referência, ALT, AST, GGT, FA.....	59
TABELA 6- Valor de Referência Plaquetas.....	59
TABELA 7- Valor de Referência Hemoglobina e Bilirrubina Total.....	59

ARTIGO 1

TABELA 1- Características bioquímicas, hematológicas e estadiamento da fibrose hepática em 84 pacientes transplantados de fígado com hepatite C crônica, tratados com sofosbuvir associado ao daclatasvir ou simeprevir, Recife / PE, 2015-2019.....	70
--	----

TABELA 2- Características do tratamento prévio e tratamento atual da HCC com sofosbuvir associado ao daclatasvir ou simeprevir, em 84 pacientes transplantados com hepatite C crônica, Recife / PE, 2015-2019.....72

TABELA 3- Características bioquímicas, hematológicas e estadiamento da fibrose hepática em 84 pacientes transplantados de fígado com hepatite C crônica, tratados com sofosbuvir associado ao daclatasvir ou simeprevir, Recife / PE, 2015-2019.....75

ARTIGO 2

TABELA 1- Características demográficas e clínicas de 137 pacientes com infecção crônica pelo vírus da hepatite C tratados com os antivirais de ação direta de segunda geração, Recife / PE, 2015-2020.....92

TABELA 2- Características do tratamento prévio e atual de 137 pacientes com infecção crônica pelo vírus da hepatite C, tratados com os antivirais de ação direta de segunda geração, Recife / PE, 2015-2020.....93

TABELA 3- Características bioquímicas em pacientes com infecção pelo vírus da hepatite C, antes e após 12 e 24 semanas do tratamento com os antivirais de ação direta de segunda geração, Recife / PE, 2015.....94

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AASLD	<i>American Association for the Study of Liver Diseases</i>
ALT	Alanina aminotransferase
APRI	Índice da relação aspartato aminotransferase sobre plaquetas
AST	Aspartato aminotransferase
Anti-HCV	Anticorpo contra o vírus da hepatite C
Bil-T	Bilirrubinas totais
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
CHC	Carcinoma hepatocelular
DHGNA	Doença hepática gordurosa não alcoólica
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DAA	Antivirais de ação direta
DCV	Daclastavir
DSV	Dasabuvir
EA	Efeito adverso
FIB-4	Fibrosis-4 score
GGT	Gama glutamil transferase
HBV	Vírus da hepatite B
HCC	Hepatite C crônica
HCV	Vírus da hepatite C
HUOC	Hospital Universitário Oswaldo Cruz
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
LDP	Ledipasvir
IFN	Interferon
IQR	Intervalo interquartil
LSN	Limite superior de normalidade
m/s,	Metro/segundos
METAVIR	Escore correspondente ao estágio da fibrose.
mg/mL	Nanograma/mililitros
mHz	Mega Hertz
PEG-INF	Interferon peguilado

OMB	Ombitasvir
ORF	Open Reading Frame
PCDT	Protocolo Clínico de Diretrizes Terapêuticas
PTV	Paritaprevir
pg/mL	Picograma/mililitros
Plt	Plaquetas
RNA	Ácido ribonucléico
RTV	Ritonavir
RVS	Resposta virológica sustentada
SOF	Sofosbuvir
TE	Elastografia transitória
TH	Transplante hepático
UI/ml	Unidades internacionais/mililitros
UTF	Unidade de transplante de fígado
VEL	Velpatasvir

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REVISÃO DA LITERATURA	21
2.1	CARACTERÍSTICAS GERAIS DO VÍRUS DA HEPATITE C	21
2.2	EPIDEMIOLOGIA DA HEPATITE C	22
2.3	MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E HISTÓRIA NATURAL DO HCV	23
2.4	DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO PELO HCV	25
2.5	MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA FIBROSE HEPÁTICA	26
2.5.1	Biomarcadores séricos de lesão hepática	30
2.6	TRATAMENTO PARA HEPATITE C	33
2.6.1	Terapia atual- DAAs de segunda geração	35
3	OBJETIVOS	45
3.1	OBJETIVO GERAL	45
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	45
4	MATERIAIS E MÉTODOS	46
4.1	POPULAÇÕES, LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO	46
4.2	DESENHO DO ESTUDO	46
4.3	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	48
4.4	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	48
4.5	OPERACIONALIZAÇÃO DA PESQUISA	49
4.5.1	Método de coleta	49
4.6	DEFINIÇÃO DE TERMOS E CATEGORIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS	51
4.6.1	Variáveis dependentes	50
4.6.2	Variáveis independentes	51
4.7	ESQUEMAS ANTIVIRAIS	55
4.8	EXAMES LABORATORIAIS	56
4.8.1	Análise Bioquímica e Hematológica	56

4.8.2	Avaliação da carga viral (quantificação do HCV-RNA).....	58
4.8.3	Avaliações Clínicas e Laboratoriais, determinação de APRI e FIB-4	58
4.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA	58
5	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	60
6	RESULTADOS.....	61
6.1	ARTIGO 1 - IMPACTO DOS ANTIVIRAIS DE AÇÃO DIRETA NO TRATAMENTO DA HEPATITE C CRÔNICA EM PACIENTES TRANSPLANTADOS DE FÍGADO EM DOIS CENTRO UNIVERSITÁRIOS DE PERNAMBUCO: UM ESTUDO DE VIDA REAL.....	61
6.2	ARTIGO 2- EVOLUÇÃO DOS MARCADORES LABORATORIAIS E ÍNDICES APRI E FIB-4 A APÓS CURA VIROLÓGICA DA HEPATITE C COM OS NOVOS DAAS	84
7	CONCLUSÕES.....	101
8	RECOMENDAÇÕES.....	102
	REFERÊNCIAS.....	103
	APÊNDICE A–TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	123
	APÊNDICE B – FICHA DE COLETA DE DADOS	126
	APÊNDICE C – VERSÃO DO ARTIGO 1 EM INGLÊS.....	135
	APÊNDICE D – VERSÃO DO ARTIGO 2 EM INGLÊS	145
	ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UFPE	161
	ANEXO – B AUTORIZAÇÃO A CONSULTAR OS PRONTUÁRIOS DOS PACIENTES NO SAME DO HOSPITAL DAS CLINICAS/UFPE	171

1 INTRODUÇÃO

A introdução, dos regimes com DAAs de segunda geração transformou o tratamento da hepatite C crônica (HCC), em ensaios clínicos, estes regimes resultam em um aumento nas taxas de resposta virológica sustentada (RVS) com resultados acima de 95% (D'AMBROSIO et al., 2017; ANDRES et al., 2018), mais alta do que a terapia anterior baseada em interferon peguilado (PEG-INF) e ribavirina (RVB), com taxa de cura variando até 50% e a primeira geração de DAAs, boceprevir e telaprevir (BACKUS et al., 2011; OLLENDORF et al., 2014). Além da eficácia limitada, esses esquemas provocam diversos efeitos colaterais, além de baixa taxa de RVS nos transplantados (BURTON et al., 2014; BROWN JR. et al., 2016).

A aprovação dos DAAs introduzido em 2015 ~~no~~ pelo Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil, impactou a saúde pública com melhorias no tratamento do HCV, por ser tratamento apenas de uso oral, altamente eficazes, e com excelente perfil de segurança, apresentando ainda tolerabilidade favorável principalmente na população que não podia ser tratadas com interferon, como os coinfectados por HIV, transplantados de fígado, cirrose descompensada e doença renal crônica grave (FALADE-NWULIA et al., 2017; FARIAS et al., 2020).

A maioria dos estudos vem mostrando que a erradicação viral pode estar associada à melhora da função hepática, ao aumento de sobrevida, à diminuição da fila de transplante e até mesmo ao retardo da progressão da fibrose, reduzindo o risco de ocorrência de cirrose e carcinoma hepatocelular (CHC) (BRUNO et al., 2017; IOANNOU; GREEN; BERRY, 2018; CUNNINGHAM et al., 2019).

Estudos nacionais e internacionais que avaliaram os regimes de tratamento com DAAs mostraram excelentes taxas de RVS, confirmando a efetividade desses esquemas terapêuticos. Sulkowski et al. (2014) avaliaram a combinação do DCV e SOF, em genótipos 1, 2 e 3: os melhores resultados foram obtidos com pacientes do genótipo 1 tratados por 12 semanas. A taxa de RVS foi de 98%, tanto em pacientes virgens de tratamento quanto em pacientes com resposta nula em tratamentos anteriores (SULKOWSKI, 2014).

Em relação aos estudos que avaliam a resposta ao tratamento em transplantados de fígado, o estudo ALLY-1, prospectivo de fase 3, envolvendo todos os genótipos, e pacientes submetidos ao tratamento com SOF+DCV+RBV por 12 semanas e divididos em duas coortes: pacientes cirróticos compensados/

descompensados e transplantados de fígado, o grupo dos cirróticos alcançou 83% de RVS global e o dos transplantados de fígado 94%, também mostraram taxas de RVS após tratar com DAAs, em pacientes transplantados os pacientes com o genótipo 1 tiveram 97% de RVS, já os do subgenótipo 1b 90% e o genótipo 3 RVS de 91% (POORDAD et al., 2016).

Atualmente são poucos os estudos realizados no Brasil que envolvem indivíduos transplantados de fígado (MUCENIC et al., 2018; ARAUJO et al., 2019; ZANAGA et al., 2019). No estudo de Zanaga e colaboradores, realizado em Campinas/SP, a taxa de RVS foi 98%, com apenas uma única falha virológica, que ocorreu em paciente cirrótica, previamente experimentada a interferon, com infecção pelo HCV genótipo 3, tratada por 12 semanas (ZANAGA et al., 2019).

No estudo de Araújo et. al (2019) foram tratados 68 pacientes transplantados, com genótipos 1 (51,4%) e 3 (45,6%), todos tratados com esquema SOF e DCV com RBV por 12 semanas. O autor demonstrou taxa de RVS de 95,5%, com apenas três falhas virológicas. Mucenic et al (2018) em um estudo de vida real de 40 transplantados brasileiros, predominantemente com HCV do genótipo 3 (66,7%), tratados por 12 semanas com SOF e DCV sem RBV (28 pacientes) ou com RBV (11 pacientes). A RVS foi obtida em 24 dos 28 pacientes (85,7%) que receberam SOF e DCV e em todos os pacientes (100%) que receberam SOF e DCV.

A avaliação do estágio de fibrose hepática é primordial para a escolha do esquema de tratamento, definição do seguimento e prognóstico pós-tratamento (BRASIL, 2015). Vários métodos indiretos podem ser usados, de forma confiável, para o estadiamento da fibrose hepática, através de técnicas de imagem, como a elastografia hepática por ultrassom (BARR et al., 2020) ou através dos biomarcadores sorológicos, como o escore de fibrose baseado em 4 fatores (FIB-4) e o índice de relação aspartato aminotransferase (AST) sobre plaquetas (APRI) (LIN et al., 2011).

Alguns estudos já demonstraram a redução dos escores sorológicos APRI e FIB-4, sendo um indicativo na redução da atividade necro-inflamatória após RVS em indivíduos tratados com os DAAs de segunda geração (BACHOFNER et al., 2017; HUANG et al., 2020; LEE et al., 2020). Entretanto, poucos avaliaram a evolução a longo prazo (LU et al., 2016).

Nesse contexto, torna-se necessário uma melhor compreensão do comportamento da efetividade dos esquemas DAAs, principalmente em relação aos

transplantados de fígado, que possuem diversas variáveis associadas à progressão da doença, permitindo ao clínico direcionar o melhor tratamento para aqueles pacientes com baixas respostas para a terapia antiviral, e até mesmo uma individualização terapêutica (associação com ribavirina ou aumentando o tempo de tratamento) para pacientes com altas probabilidades de falha terapêutica, além disso, faltam evidências definitivas que comprovem mudanças ou não na rigidez hepática, na inflamação do fígado e até mesmo na função hepática, após a RVS em pacientes com HCC tratados com os DAAs de segunda geração.

O objetivo deste estudo foi descrever a taxa de RVS após tratamento em pacientes transplantados de fígado e não transplantados com HCC e avaliar o impacto da resposta virológica sustentada (RVS) após tratamento com DAAs de segunda geração na evolução das transaminases aspartato (AST) e alanina (ALT) aminotransferases, contagem de plaquetas (PLT) e nos escores APRI e FIB4 em dois estudos de vida real.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DO VÍRUS DA HEPATITE C

O vírus da hepatite C (HCV) pertence à família *Flaviviridae*, envelopado, com um genoma de RNA de fita simples com polaridade positiva, composta por aproximadamente 9600 nucleotídeos (CHOO et al., 1989).

Durante a replicação viral acontece em uma única fase de leitura aberta (ORF, “open reading frame”) que codifica para uma poliproteína de cerca de 3.000 aminoácidos, que é clivada por enzimas virais tal como enzimas do hospedeiro em três proteínas estruturais (Core, E1 e E2) e proteínas não estruturais (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B (SIMMONDS,1999). O genoma possui duas regiões não traduzidas: 5'UTR com aproximadamente 341 nucleotídeos; e região 3'UTR com aproximadamente 230 nucleotídeos. A região 3'UTR (região não traduzida) é composta de uma região variável de 80 nucleotídeos, um trato poli U/UC, de comprimento variável e uma região altamente conservada de aproximadamente 98 nucleotídeos chamada cauda X, importantes para a replicação e infecção do vírus (TANAKA et al., 1996)

A região 5'UTR é composto de 4 domínios, I à IV. Os domínios II, III e IV da região 5'UTR, junto com os primeiros 24-40 nucleotídeos da região do core constituem o sítio interno de entrada do ribossomo (IRES). A tradução da poliproteína do HCV inicialmente ocorre através da formação de um complexo binário entre o IRES e a subunidade 40S do ribossomo e a iniciação da tradução de uma forma cap – independente do RNA viral (SPAHN et al., 2001). O complexo IRES-40S recruta o fator de iniciação eucarioto (eIF) 3 e o complexo ternário Met-tRNA-eIF2-GTP para a associação com a subunidade 60S formando o complexo ativo 80S (OTTO; PUGLISI, 2004).

Essa variação genética permite reconhecer sete genótipos diferentes (ASHFAQ et al., 2011; SMITH et al., 2014). A primeira sequência genômica do HCV, que foi denominada sequência do HCV-1, foi isolada em 1989 (CHOO et al., 1989). Baseando-se na análise filogenética e na heterogeneidade genômica do HCV, várias outras sequências de HCV foram relatadas e agrupadas em sete principais genótipos, denominados de 1 a 7 e vários subtipos (identificados por letras) (SULTAN et al., 2010; SMITH et al., 2014). A diversidade deste padrão de

organização genética atribui ao HCV um mecanismo complexo de escape da resposta imunológica. Esta característica leva a implicações clínicas e terapêuticas relevantes, dentre elas a dificuldade de eliminação do HCV pelo sistema imune do hospedeiro, resultando na cronicidade da doença, o rápido desenvolvimento da resistência aos fármacos e o desafio de desenvolvimento de uma vacina eficaz (SILVA, et al. 2012).

2.2 EPIDEMIOLOGIA DA HEPATITE C

De acordo com o mais recente relatório da Organização Mundial da Saúde (OMS) publicado em 2017, estima-se em 1% a prevalência global da infecção pelo HCV, correspondendo a 71 milhões de virêmicos no mundo. A cada ano há cerca de 1,75 milhão de novas infecções (WHO, 2017).

No período de 1999 a 2020, foram notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan), 262.815 casos confirmados de hepatite C no Brasil, sendo 58,9% no Sudeste, 27,5% no Sul, 6,5% no Nordeste, 3,6% no Centro-Oeste e 3,5% no Norte (MINISTERIO DA SAÚDE, 2021).

Segundo dados do Boletim Epidemiológico Hepatites Virais 2021, publicado pelo Ministério da Saúde, a infecção se concentra predominantemente em homens (57,6%), maiores de 60 anos (22%), brancos (55,3%), com provável fonte de infecção desconhecida (56,9%). As principais fontes de infecção identificadas são uso de drogas injetáveis (7,4%), transfusão sanguínea (11,9%) e via sexual (9%). (MINISTERIO DA SAÚDE, 2021).

Os óbitos por HCV é a principal causa de morte entre as hepatites virais. De 2000 a 2019, foram identificados 59.950 óbitos relacionados à hepatite C, a distribuição total de óbitos por HCV em varias regiões brasileiras, verifica-se que 55,9% ocorreram no Sudeste, 23,8% no Sul, 10,9% no Nordeste, 5,0% no Norte e 4,4% no Centro-Oeste (MINISTERIO DA SAÚDE, 2021).

Os tipos de genótipos variam de acordo com a região (WHO, 2017). Os genótipos 1 e 3 tem distribuição mundial e são os mais prevalentes, o genótipo 1 cerca de 46,2% dos casos, seguido pelo genótipo 3 (30,1%) (MESSINA et al., 2015). Os genótipos 2 é responsável por 9% dos casos, seguido pelo genótipos 4 (8%),

pelo genótipo 5 (1%), e genótipo 6 (6%). O genótipo 7 foi identificado em somente alguns indivíduos da região central da África (MURPHY et al., 2015).

Na Europa, o genótipo 1 é o mais prevalente, seguido pelos genótipos 2 e 3. O genótipo 2 apresenta maior prevalência na África Central e o genótipo 3 está relacionado ao maior número de infecções na Índia, Paquistão e países do norte europeu. Os genótipos 4 e 5 se tornaram mais prevalentes devido a emigração do Oriente Médio e África (MESSINA et al., 2015). O genótipo 6 é mais prevalente no leste e sudeste da Ásia (TSUKIYAMA-KOHARA; KOHARA, 2017).

No Brasil, a maior prevalência é do genótipo 1, sendo o subtipo 1a o mais prevalente, seguido pelo subtipo 1b, genótipo 3 e genótipo 2; os genótipos 4 e 5 possuem baixa prevalência no país (CAMPIOTTO et al., 2005; HAJARIZADEH, et al., 2013; FREITAS et al., 2014). Cerca de 50 a 70% do total de casos são do genótipo 1 prevalentes na Região Norte e Nordeste, seguido do tipo 3 com 25% dos casos mais frequente na Região Sul, e o tipo 2 com apenas 5%, sendo os demais genótipos (PEREIRA et al., 2013; OLIVEIRA, et al., 2015).

2.3 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E HISTÓRIA NATURAL DO HCV

A hepatite C é uma das principais causas de doença hepática, com evolução aguda ou crônica. A forma aguda pode durar semanas, com sintomas inespecíficos ou sem presença de sintomas, o que dificulta o diagnóstico (THIMME et al., 2001). Cerca de 15 a 45% dos infectados apresentam eliminação viral espontânea no decorrer de 6 meses após a infecção (WHO, 2017). Em situações em que o sistema imunológico é incapaz de eliminar o HCV, há cronicidade da infecção (SILVA, et al. 2012).

Alguns pacientes começam a desenvolver sinais clínicos entre duas e doze semanas após a transmissão do vírus. Porém, de modo geral, a forma aguda apresenta evolução subclínica, em que cerca de 80% dos casos tem apresentação assintomática e anictérica, o que dificulta o diagnóstico (ORLAND; WRIGHT; COOPER, 2001). Menos de 20% apresentam sintomas inespecíficos mais intensos, como anorexia, astenia, mal-estar, febre, prurido e dor abdominal. Ainda entre os

sintomáticos, a icterícia acomete entre 50,0 e 84,0% dos casos, sendo o sinal clínico característico da doença hepática mais frequente (LOOMBA et al., 2011).

Na forma crônica, se caracteriza pela presença de alterações no parênquima hepático, a HCC se apresenta como um quadro inflamatório predominantemente portal. A forma crônica, definida como lesão hepática necroinflamatória que perdura por mais de seis meses, costuma ter manifestações clínicas em estágios mais avançados da doença e por muitas vezes sendo percebidas através de suas complicações, como inflamação hepática persistente que leva à formação de fibrose, cirrose e carcinoma hepatocelular (SILVA, et al. 2012).

Os estudos mostram que em média 20% dos infectados podem evoluir para cirrose hepática e 1 a 5% para carcinoma hepatocelular (CHC) (KOHLI, et al., 2014; STEVEN, 2017) sendo considerada a principal causa de indicação de transplante hepático no mundo (LAVANCHY, 2009).

A HCC pode ser assintomática ou ocorrem alguns sintomas inespecíficos como náusea, mialgia e dor abdominal, e a maior parte dos sinais e sintomas relacionados ao comprometimento hepático geralmente são observados em estágios avançados de fibrose (WESTBROOK; DUSHEIKO, 2014). Vários fatores parecem influenciar na progressão da fibrose, como, à idade avançada, sexo masculino, imunossupressão decorrente coinfeção pelo HIV ou de transplante hepático, bem como desordens metabólicas tais quais esteatose hepática, obesidade, resistência à insulina e diabetes (IOANNOU et al., 2007).

A historia natural da infecção pelo HCV é diferente nos indivíduos submetidos ao transplante hepático, nesse grupo a progressão da fibrose hepática para cirrose é mais acelerada quando comparada aos não transplantados (FIRPI et al., 2009; VINAIXA et al., 2013; DUVOUX et al., 2013).

A literatura mostra taxa de progressão de 0,3-0,8 estágios/ano, levando a ocorrência de cirrose em cerca de 25% dos enxertos em período médio de cinco anos após o transplante, o que justifica a redução na sobrevida em relação as outras causas de transplante hepático (DUVOUX et al., 2013; VINAIXA et al., 2013; BERENGUER et al., 2013). Nesta população é comum ocorrer complicações secundárias relacionada a descompensação da doença hepática sendo, caracterizada pela ocorrência de ascite, peritonite bacteriana espontânea, encefalopatia hepática ou hemorragia de varizes esofágicas (BERENGUER et al., 2008). Geralmente eles desenvolvem um quadro grave de hepatite colestática

fibrosante, que é associado a cargas virais elevadas e levando a perda do enxerto após poucos meses de evolução (VINAIXA et al., 2013).

2.4 DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO PELO HCV

O diagnóstico laboratorial é realizado a partir de testes sorológicos, que se baseiam na detecção de marcadores encontrados no sangue, soro, plasma ou fluido oral através do imunoensaio ou pesquisa de ácido nucleico viral (HCV-RNA), e genotipagem, utilizando técnicas de biologia molecular, como a reação em cadeia da polimerase em tempo real (PCR) (BRASIL, 2019).

São utilizados dois principais métodos, o primeiro é o ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), um teste sorológico imunoenzimático cuja metodologia se baseia em reações antígeno-anticorpo detectáveis através de reações enzimáticas que detecta anticorpos anti-HCV. O segundo é a PCR, uma técnica de biologia molecular que amplifica parte do genoma viral, com determinação qualitativa do HCV-RNA, bem como a quantificação da carga viral. É teste importante na avaliação de resposta ao tratamento, já que o que se espera que ocorra ao final do tratamento o desaparecimento do RNA viral do soro (MICHELIN, et al., 2007; FARIAS et al., 2020).

A genotipagem consiste no sequenciamento de regiões nucleotídicas específicas do genoma do HCV para determinação do genótipo. Neste método, a análise é realizada na região 5'NC por causa do alto grau de conservação que permite distinguir os sete genótipos do vírus. O método mais utilizado é a técnica de RT-PCR, na qual se utilizam sondas fluorescentes marcadas com oligonucleotídeos específicos para cada genótipo (ELAHI et al., 2003).

Há ainda testes rápidos, preconizados pela OMS, sendo mais acessíveis mais simples e preciso, pois possibilita o encurtamento do tempo de descoberta da doença (ADLAND et al., 2018; WHO, 2017), e os exames complementares que auxiliam na avaliação da doença hepática (aminotransferases, gama glutamil transferase, bilirrubinas, proteínas séricas, fosfatase alcalina, atividade de protrombina, alfafetoproteína, contagem de leucócitos e plaquetas) (BRASIL, 2015).

A presença do HCV-RNA pode ocorrer cerca de duas semanas após a exposição ao HCV (ALTER, 1997). O nível do HCV-RNA aumenta rapidamente

durante as primeiras semanas, atingindo seus níveis máximos entre 10^5 e 10^7 UI/mL, antes do pico dos níveis séricos de aminotransferases (STRAUUS et al., 2001). Em 25% a 50% dos casos após a infecção aguda pelo HCV pode ocorrer o clareamento viral espontâneo.

Já o marcador anti-HCV é encontrado a partir da sétima semana e persiste por anos. Os níveis de alanina aminotransferase (ALT) se elevam no soro, geralmente entre a segunda e oitava semana após exposição, voltando ao normal até o sexto mês de infecção, quando o HCV- RNA desaparece, nos casos que evoluem para cura espontânea. A persistência do HCV- RNA por mais de seis meses caracteriza a infecção crônica, e os anticorpos anti-HCV permanecem detectáveis. Além disso, os níveis de ALT podem apresentar alterações (CHEVALIEZ, 2011; MARTÍNEZ-REBOLLAR et al., 2011; BRASIL, 2015).

A fase aguda caracteriza-se pela elevação da atividade das aminotransferases, principalmente ALT, entre 2 e 8 semanas após a exposição, indicando necrose do hepatócito. Frequentemente, a ALT pode se elevar cerca de 10 vezes acima do Limite superior de normalidade (LSN), com padrão flutuante (BRASIL, 2015). Em cerca de 15-45% dos indivíduos infectados ocorre o clareamento viral espontâneo após infecção aguda. No entanto, 55-85% das pessoas desenvolvem infecção crônica, caracterizada pela persistência do HCV- RNA no sangue após 6 meses e confirmação diagnóstica com HCV-RNA detectável (BRASIL, 2015; WHO, 2017). Em média, 20% dos paciente podem evoluir para cirrose em 20-30 anos de infecção pelo HCV e 1 a 5% dos pacientes desenvolvem HCC (WESTBROOK; DUSHEIKO, 2014).

2.5 METODOS DE AVALIAÇÃO DA FIBROSE HEPÁTICA

As lesões causadas pela ação do HCV ao tecido hepático transformam-se em um acúmulo excessivo de células apoptóticas como consequência ocorre o depósito de colágeno e fibronectina da matriz extracelular, prosseguindo com a cicatrização tecidual que gera deformidades na estrutura do tecido hepático, além de perda da função celular e fisiológica (GRESSNER; WEISKIRCHE, 2006; FRIEDMAN, 2008). O patógeno tem o potencial de infiltração no tecido hepático liberando fatores pró-fibrogênicos, entre eles estão o fator de crescimento B-1 (TGF-B1), que aumenta os

níveis inibidores da metaloproteinase tecidual (TIMP-1) e bloqueia a ação enzimática responsável pela manutenção da matriz extracelular (SEBASTIAN et al., 2009).

A cirrose é uma doença crônica que pode causar alterações na função hepática através da formação de nódulos anormais. Esta desorganização da arquitetura anatômica gera alterações vasculares no fígado, levando a consequências secundárias, tais quais: desenvolvimento de hipertensão portal e o aparecimento de insuficiência e falha do órgão, e complicações como sangramento das varizes esofágicas, ascite, encefalopatia hepática e icterícia (FALLOWFIELD; HAYES, 2011; GUEDES; RIBEIRO, 2017).

Em suma, é possível notar que a progressão da fibrose hepática, é um fator de risco para desenvolvimento de CHC, o tumor maligno primário mais comum, encontrado em 50% de todos os casos de câncer, aparecendo com frequência em pacientes cirróticos e caracterizando-se como a segunda maior causa de morte entre os infectados pelo HCV. (THEIN et al., 2008). A inflamação crônica do HCV leva a uma modulação de citocinas, favorecendo a formação de um microambiente tumoral (VASAVADA; CHAN, 2015).

A fibrose é o principal definidor de progressão da doença, o diagnóstico preciso do estágio de fibrose hepática é essencial no manejo clínico, na decisão da de terapia antiviral, e na avaliação da resposta ao tratamento (SEBASTIANI, 2009).

Uma análise detalhada dos mecanismos celulares e moleculares que medeiam a fibrose hepática, estudos mostram que as terapias tem objetivo na prevenção, retardando e até mesmo na regressão da fibrose (D'AMBROSIO et al., 2012; POYNARD et al., 2013; ROCKEY; FRIEDMAN, 2021). Prevenindo assim o desenvolvimento de insuficiência hepática, hepatocarcinoma e/ou reduzir a hipertensão portal e suas complicações como hemorragia de varizes, ascite e encefalopatia (FALLOWFIELD E HAYES, 2011).

É importante reconhecer que, do ponto de vista conceitual, a fibrose tende a regredir em diferentes graus podendo ser diferente de paciente para paciente. Isso quer dizer que alguns pacientes tenham regressão mínima, enquanto outros podem ter regressão pronunciada. É provável que quanto mais leve o estágio de fibrose maior a chance de o fígado voltar ao normal ou próximo do normal, por outro lado, quanto mais grave a fibrose, menos provável que o fígado retorne a sua estrutura normal (ROCKEY; FRIEDMAN, 2021).

O padrão-ouro para o estadiamento da fibrose hepática é o exame histopatológico de fragmento obtido, geralmente, através de biópsia percutânea por agulha fina (CHOI et al., 2014). O procedimento necessita ser realizado em ambiente hospitalar, por profissional treinado e não é isento de complicações, que ocorrem em até 13,6% dos casos, podendo ser graves em 0,75% dos casos (VAN DER POORTEN et al., 2006; MYERS; FONG; SHAHEEN, 2008).

As limitações da biópsia hepática incluem o risco de complicações, a qualidade da amostra e a variabilidade intra e inter-observador (MYERS; FONG; SHAHEEN, 2008; VAN DER POORTEN et al., 2006). A precisão do exame histológico depende da técnica de amostragem, tamanho da amostra e experiência do examinador (ROCKEY et al., 2008). Além disso, a biópsia do fígado raramente é repetida após o tratamento devido à invasividade do procedimento e as considerações éticas.

O estadiamento da atividade necroinflamatória é uma conduta fundamental para que estratégias de acompanhamento e tratamento da hepatite C sejam definidas. O Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas (PCDT) para Hepatite C e Coinfecções, publicado em 2015 pelo MS (BRASIL, 2015), recomenda a classificação METAVIR, proposto por um grupo de pesquisadores franceses de mesmo nome, para que se estabeleça o estágio de fibrose (BEDOSSA; POYNARD, 1996).

De acordo com o METAVIR, a fibrose hepática é classificada em 5 estágios: F0 = ausência de fibrose portal e Periportal; F1 = fibrose portal e Peri portal sem septos; F2 = fibrose portal e Peri portal com raros septos; F3 = fibrose portal e Peri portal com numerosos septos e F4 = cirrose. Considera-se fibrose significativa METAVIR $\geq$ F2, fibrose avançada METAVIR $\geq$ F3 e cirrose METAVIR = F4 (BEDOSSA; POYNARD, 1996) (Tabela1).

Tabela 1- Classificação METAVIR baseada em achados de histologia hepática.

Atividade necroinflamatória	Fibrose (Alteração da arquitetura)
A0 – sem atividade	F0 – sem fibrose
A1 – atividade leve	F1 – fibrose portal sem septos
A2 – atividade moderada	F2 – fibrose moderada, poucos septos
A3 – atividade grave	F3 – fibrose avançada, numerosos septos
	F4 – cirrose

Adaptado de GAGGINI et al., 2015.

Os marcadores não invasivos de fibrose podem ser sorológicos ou físicos, e os marcadores sorológicos podem ser diretos ou indiretos.

A detecção da fibrose pode ser feita por um método não invasivo e indolor, através de técnicas de imagem como a elastografia hepática transitória (TE), comumente conhecido como FibroScan®, por ultrassom e por ressonância magnética (RNM) (SANDRIN et al., 2002; BOTA et al., 2012). Podemos utilizar também os biomarcadores séricos através dos escores *AST to Platelet Ratio Index* (APRI) ou *Fibrosis Index Based on Four Factors* (FIB4), estes escores são obtidos por meio de cálculo matemático simples, que utiliza os resultados de exames laboratoriais realizados durante o acompanhamento do paciente com HCC (BRASIL, 2015; XIAO; YANG; YAN, 2015).

Dentre as técnicas de elastografia por ultrassom, as utilizadas atualmente são Acoustic radiation Force impulse (ARFI), traduzida como radiação acústica por ondas de cisalhamento e a elastografia por ondas de cisalhamento bidimensional (2D-SWE). Esta última técnica é uma variação do ARFI, utilizando uma maior região de medida da rigidez do fígado (HOROWITZ et al., 2017; BARR et al., 2020).

As técnicas de elastografia medem a rigidez hepática pela medida da velocidade de onda acústica ou mecânicas induzidas, que se propagam no tecido hepático. Este processo é chamado de “*shear wave*” (onda de cisalhamento). A velocidade da onda é maior quanto mais rígido ou mais fibrótico for o tecido hepático (HOROWITZ et al., 2017). A TE fornece uma medida da rigidez do fígado é expressa em kPa, enquanto as varreduras ARFI fornecem a velocidade da onda de cisalhamento relatada em m/s (EASL, 2015; BARR et al., 2020).

A elastografia por ressonância magnética nuclear (RNM) é o método atual mais acurado para o diagnóstico da fibrose hepática, principalmente da fibrose em sua fase inicial em que os outros métodos falham mais. Pode apenas sofrer influência da sobrecarga de ferro que porventura o paciente venha a ter. Tem a desvantagem de ser uma técnica mais cara que as demais citadas acima, sendo sempre deixada para segunda opção nos diagnósticos (HOROWITZ et al., 2017). Esse método tem importantes limitações, que dificultam a aplicabilidade em larga escala, por se tratar de exame de custo elevado. Além disso, a presença, de claustrofobia, obesidade que impeça a acomodação na máquina ou sobrecarga hepática de ferro também limitam a realização do exame.

Em um estudo de meta análise comparando TE e ARFI, a frequência de falhas de diagnóstico foi 3 vezes maior com o TE que com o ARFI (6,6% vs 2,1% $p < 0.001$) (HOROWITZ et al., 2017). De fato, HOROWITZ et al., (2017) referem que a TE é uma das modalidades recentes mais confiáveis para avaliar o nível de fibrose sem a necessidade da biópsia. Vários estudos avaliaram a eficácia da TE em pacientes com e sem HCC e relataram que a acurácia diagnóstica era quase igual entre eles.

2.5.1 Biomarcadores séricos de lesão hepática

Existem métodos não invasivos bioquímicos para identificar a fibrose avançada e a cirrose. (BRASIL, 2015). O índice *AST to Platelet Ratio Index* (APRI), e o escore *Fibrosis Index Based on Four Factors* (FIB-4). São biomarcadores séricos que podem ser utilizado como preditores de fibrose significativa são muito utilizados na prática clínica, sobretudo por não exigirem tecnologias sofisticadas (WAI et al., 2003; STERLING et al., 2006).

- Para calcular o APRI utilizamos a seguinte formula (WAI et al., 2003):

$$APRI = \frac{\text{Valor de AST (UI/L)}}{\frac{\text{Limite Superior Normal de AST (UI/L)}}{\text{Contagem de Plaquetas (109)}}} \times 100$$

- Para calcular o FIB4 utilizamos a seguinte formula (STERLING et al., 2006):

$$FIB4 = \frac{\text{Idade (anos)} \times \text{AST (UI/L)}}{\text{Contagem de Plaquetas (109)} \times \sqrt{\text{ALT (UI/L)}}}$$

O índice APRI, validado pela OMS, foi originalmente considerado marcador não invasivo para a detecção de fibrose hepática em pacientes com HCC. O APRI tem sido usado para prever a mortalidade relacionada às hepatopatias em

pacientes com infecção pelo vírus da hepatite C crônica ou doença hepática alcoólica (BURROUGHS; CHOLONGITAS, 2007).

O teste APRI é utilizado em diversos estudos, usando uma fórmula simples, que inclui aspartato aminotransferase (AST) e plaquetas, uma vez que os sinais de hipertensão portal resultam num declínio da contagem de plaquetas, baseia-se em apenas parâmetros laboratoriais. Inicialmente foi descrito como preditor de fibrose significativa, utilizando-se os pontos de corte $\leq 0,5$ e $> 1,5$, obtendo um resultado na curva ROC de 0,88 e 51% dos pacientes corretamente classificados; e de cirrose, utilizando-se os pontos de corte $\leq 1,0$ e $> 2,0$, obtendo um resultado na curva ROC de 0,94 e 81% dos pacientes corretamente classificados (WAI et al., 2003).

Esse escore já foi devidamente validado para pacientes portadores de hepatite C, apresentando como valor de corte 1,05, uma especificidade de 90%, uma sensibilidade de 85,9%, um valor preditivo positivo de 86,9%, um valor preditivo negativo de 89,7% e acurácia de 88,5% quando considerado análise para fibrose avançada (F3 e F4), com uma queda quando incluídos paciente F2 (VIANA et al, 2009). Entretanto em um estudo de metanálise foi encontrado o valor de 0,7, a sensibilidade é de 77%, a especificidade de 72%, valor preditivo positivo de 70% e valor preditivo negativo de 79%, concluindo que o APRI apresenta utilidade moderada para o diagnóstico de fibrose, mas se mantém como a primeira opção em na pratica clinica em regiões com recursos limitados de assistência médica (LIN et al, 2011).

O outro índice é o FIB-4, que utiliza plaquetas, alanina aminotransferase (ALT), AST e idade, tratar-se de índice baseado em parâmetros clínicos e laboratoriais facilmente obtidos. Foi inicialmente descrito para pacientes com coinfeção HCV/HIV como preditor de fibrose hepática avançada, utilizando os pontos de corte $\leq 1,45$ e $> 3,25$, obtendo um resultado na curva ROC de 0,76 e 30% dos pacientes na zona cinza (pacientes não classificados). Dos 70% dos pacientes com valores abaixo do ponto de corte inferior ou acima do ponto de corte superior, 28 86% foram corretamente classificados. Considerando-se, portanto, os pacientes, a utilização do FIB-4 para predição de fibrose evitaria a biópsia hepática em cerca de 60% dos pacientes (STERLING et al., 2006).

O FIB-4 pode apresentar maior especificidade e, em alguns casos, é possível prever com maior precisão o grau de fibrose em comparação com o APRI (WANG et al., 2015). Vallet-Pichard et al. (2007) demonstraram que a sensibilidade e a

especificidade foram, respectivamente, 74,3% e 80,1% para ponto de corte 3,25, a sensibilidade foi de 37,6% e a especificidade de 98,2%. Em estudo comparativo dos métodos FIB 4 e Fibroscan, em uma população de 182 indivíduos, demonstrou-se que o FIB-4 apresentou 88% de especificidade, mostrando ser um bom preditor para fibrose hepática juntamente com o Fibroscan (YOSRY, et al., 2016).

Outros métodos, como análise da atividade das enzimas hepáticas ALT, AST e GGT, são frequentemente utilizados na prática clínica na avaliação e monitoramento de pacientes com doença hepática. Níveis alterados de atividade destas enzimas podem refletir lesão nos hepatócitos, esteatose e/ou estresse oxidativo (SOOKOIAN et al., 2015; VAN BEEK et al., 2013), mesmo em pacientes assintomáticos (VERSLYPE, 2004). Assim, as aminotransferases têm sido consideradas biomarcadores de lesão celular hepática, uma vez que a atividade enzimática pode realmente refletir aspectos chave da fisiologia e fisiopatologia da função hepática, o que sugere que a regulação das aminotransferases é uma característica complexa e altamente regulada (SOOKOIAN et al., 2015).

Variações dos níveis destas enzimas, mesmo dentro do limite superior da normalidade (LSN), podem indicar doença hepática. (GIANNINI; TESTA; SAVARINO, 2005). Assim, é prática comum definir como nível alterado um valor que exceda o LSN (VERSLYPE, 2004) e, conseqüentemente, até 2,5% dos indivíduos normais apresentam níveis de aminotransferases "alterados" (GIANNINI; TESTA; SAVARINO, 2005).

Em pacientes com HCV, o monitoramento dos níveis de atividade das enzimas hepáticas é importante na caracterização do estágio da doença hepática, decisão de terapia antiviral e necessidade de vigilância, uma vez que uma razão AST/ALT elevada é preditiva de complicações a longo prazo incluindo fibrose e cirrose. Isso pode ser explicado pelo fato de que a lesão com dano celular leve tende a liberar maiores concentrações de ALT, a qual encontra-se predominantemente no citoplasma, enquanto no dano celular severo e na cirrose, ocorre também disfunção mitocondrial, liberando além da ALT, a AST na circulação (BOTROS; SIKARIS, 2013; GLINGHAMMAR et al., 2009; SOOKOIAN, 2015). De fato, a infecção crônica pelo HCV é caracterizada por um padrão de níveis de atividade da ALT e AST flutuando em torno do LSN, e GGT acima do LSN em cerca de 30% destes pacientes (GIANNINI; TESTA; SAVARINO, 2005).

Alguns fatores, como uso de bebidas alcoólicas, idade, gênero, coinfeção pelo HIV e outras doenças metabólicas como diabetes e obesidade, podem comprometer a análise das enzimas AST e ALT, influenciando no resultado do APRI e FIB-4. Além disso, em pacientes com hepatite C, a progressão da fibrose hepática pode reduzir a depuração de AST, levando ao aumento do nível no soro. Por isso, é importante que esses testes sejam realizados juntos para melhor acurácia (KHAN et al., 2017).

2.6 TRATAMENTO PARA HEPATITE C

O objetivo primário do tratamento da hepatite C é a erradicação do vírus, de modo a aumentar a qualidade e a expectativa de vida, prevenir as complicações associadas à infecção crônica (melhora da atividade inflamatória, regressão da fibrose hepática, cirrose, CHC), bem como a reduzir a transmissibilidade da infecção e a mortalidade associada (BRASIL, 2015; AASLD, 2015).

Erradicação do vírus é alcançada quando ocorre resposta virológica sustentada (RVS), que é definida como a não detecção do HCV-RNA no sangue, 12 ou 24 semanas após o fim do tratamento, conforme o regime terapêutico utilizado (EASL, 2015).

Até o ano de 2010, o tratamento disponível para HCC consistia em terapia dupla (TD) composta por interferon (IFN) alfa convencional ou IFN alfa peguilado (PegIFN) associado à ribavirina (RBV), com duração mínima de 48 semanas para o genótipo 1 e 24 semanas para os genótipos 2 e 3 (BRASIL, 2011).

O tratamento com INF e RBV tinha a capacidade de erradicar o vírus em 40% dos pacientes, enquanto que a combinação do PEG com RIBA, em 54 a 56% dos pacientes (THOMSON; FINCH, 2005). Porém, diversos estudos mostram que o IFN causava efeitos colaterais graves. Entre os principais efeitos adversos (EA), destacam-se as alterações hematológicas (anemia, neutropenia), além de sintomas que se assemelham aos da gripe (dor de cabeça, fadiga, febre, mialgia, tontura, perda de apetite, e perda de peso) e sintomas psiquiátricos (depressão, ansiedade, irritabilidade, insônia) (WARD; KUGELMAS, 2005). Cerca de 10% dos pacientes podem desenvolver alterações tireoidianas. Além disso, são considerados tratamentos com baixos índices de cura e prolongado tempo de terapia (de 48 a 72

semanas), necessitando de uma monitorização mais rigorosa dos pacientes a fim de aumentar adesão ao tratamento e adequar as doses (LAVANCHY, 2011).

Ao longo dos anos, com a evolução das terapias nos transplantados de fígado, vem demonstrando melhoras nas taxas de RVS e, conseqüentemente, a sobrevida pós TH. Estudos iniciais com IFN atingiam RVS em menos de 5% dos pacientes. A adição de RBV levou a taxas de RVS em torno de 20% (BURRA et al., 2006). Nova melhora nas taxas de RVS ocorreu com o emprego do Peg-IFN associado a RBV, com taxa média de RVS de 39% (BERENGUE, 2008).

A associação de Peg-IFN e RBV também já foi relacionada com ocorrência de episódios de rejeição do enxerto (GARCIA-RETORTILLO et al., 2002; BERENGUE). Estes fatores, em conjunto com a longa duração (mínimo de 48 semanas), resultavam em baixas taxas de indicação de tratamento e altas taxas de interrupção (BERENGUER, 2015).

Em 2013 foram introduzidos no PCDT os primeiros tratamentos com antivirais de ação direta (DAA) de primeira geração, os inibidores de protease telaprevir (TVR) e boceprevir (BOC) (BRASIL, 2013). Foram disponibilizados pelo Sistema Único de Saúde (SUS), para pacientes infectados pelo genótipo 1 do HCV, que apresentassem estágios avançados de fibrose (classificados com o METAVIR F3 ou F4) e utilizados em associação com RBV e PEG-INF. Foram responsáveis por melhora nas taxas de RVS mas com elevada incidência de reações adversas, e interações medicamentosas com imunossupressores, que impossibilitavam o tratamento de grande parte dos pacientes (PRICE; TERRAULT, 2015).

Em 2013, o MS definiu que TVRe BOC em associação com RBV e PEG-INF, seriam disponibilizados pelo SUS, para pacientes infectados pelo genótipo 1, que apresentassem estágios avançados de fibrose (classificados como F3 ou F4, segundo o algoritmo METAVIR) (BRASIL, 2013).

Estudos mostram que a combinação do TVR OU BOC com PEG-IFN e RBV, constituindo um esquema triplo, elevou as taxas globais de RVS de menos de 50% para aproximadamente 70%, o que indicava um promissor aumento da chance de cura em relação à terapia dupla com PEG-INF e RBV (JACOBSON et al., 2011; POORDAD et al., 2011). No Brasil, Gomes et al. observaram a reposta terapêutica de cerca de 900 pacientes e encontraram uma RVS de 45,6% com uso de BOC e 51,8% com uso de TVR (GOMES et al., 2018).

Além das taxas de RVS insatisfatórias encontradas com elevada incidência de reações adversas, a terapia com os DAAs de primeira geração BOC e TVR, ERAM administrados diversas vezes ao dia e sua absorção no trato gastrointestinal dependia da quantidade de alimentos gordurosos ingeridos concomitantemente, fatores que dificultavam a adesão ao tratamento (LOBATO et. al., 2018). Como mostra o estudo multicêntrico brasileiro, realizado por Lobato e colaboradores, encontrou uma taxa global de RVS de 54,2% e observou-se ocorrência de reações adversas em 87,5% dos pacientes (LOBATO et.al., 2018).

2.6.1 Terapia atual- DAAs de segunda geração

Com avanços no conhecimento do ciclo de replicação do HCV e de proteínas essenciais para a replicação viral, permitiram o desenvolvimento de medicamentos mais específicos, que atuavam diretamente nestes alvos potenciais.

Em 2015 foram introduzidos no BRASIL, os antivirais de ação direta de segunda geração, sofosbuvir (SOF), daclatasvir (DCV) e simeprevir (SMV) associados ou não à ribavirina. Desde então, esses esquemas passaram a integrar o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfções (PCDT), cujas atualizações e orientações sempre utilizaram esquemas combinados de drogas recomendadas de acordo com o tipo de genótipo viral, a história clínica dos pacientes, a presença de coinfeção com o vírus da imunodeficiência humana (HIV), comorbidades ou adequações de uso de outros medicamentos (BRASIL, 2015).

Estas drogas são inibidores de protease NS3/4A, inibidores NS5A e inibidores da polimerase NS5B. Com avanços no conhecimento do ciclo de replicação do HCV e de proteínas essenciais para a replicação viral, permitiram o desenvolvimento de medicamentos mais específicos, que atuavam diretamente nestes alvos potenciais (FRIED et al., 2013).

O Tratamento com DAA está associado a menor ocorrência de EA, tratamentos mais curtos, melhor menor necessidade de exames de biologia molecular para avaliação do tratamento e melhor perfil de resposta e tolerabilidade permitindo que os pacientes coinfectados com o HIV seja realizado de forma análoga ao de monoinfectados pelo HCV, e que pacientes em fase de pré-

transplante o pós-transplante realizem o tratamento de modo a alcançar melhoria na qualidade e expectativa de vida (EASL, 2017; AASLD/IDSA, 2015).

De acordo com PCDT de 2015 foi estabelecido que os transplantados com HCV-RNA detectável, tinham prioridade ao tratamento, sem necessidade de comprovação de fibrose no enxerto hepático ou hepatite colestática fibrosante. O esquema de tratamento proposto para os portadores de HCV pós-TH dependia do tipo de genótipo viral e do escore de Child-Pugh (BRASL, 2015).

As indicações de tratamento compreenderam: fibrose hepática avançada (METAVIR F3 ou F4), cirrose descompensada, ou F2 com biópsia hepática realizada há mais de 3 anos; presença de manifestações extra-hepáticas 24 graves; co-infecção com vírus da imunodeficiência humana (HIV); crioglobulinemia com manifestação em órgão-alvo; insuficiência renal crônica; presença de CHC; doenças hematológicas malignas; pós-transplante de órgãos-sólidos; púrpura trombocitopênica idiopática (BRASL, 2015).

Os esquemas terapêuticos recomendados por genótipo em 2015 eram: Genótipo 1: SOF e DCV ou SMV, com ou sem RBV o Genótipo 2: SOF e RBV o Genótipo 3: SOF e DCV, com ou sem RBV o Genótipo 4: SOF e DCV

A duração do tratamento 12 ou 24 semanas, de acordo com o estadiamento da doença hepática e com o histórico de tratamentos anteriores, contribuindo para melhorar a adesão dos pacientes. O PCDT de 2015 recomendava acompanhamento de HCV-RNA para avaliação de resposta virológica no pré tratamento e após 12 semanas. Pacientes com HCV-RNA não detectado após 12 semanas do final do tratamento atingiram RVS são considerados curados (BRASL, 2015).

A efetividade terapêutica é mensurada pela resposta virológica sustentada (RVS), então o tratamento tem como objetivo a obtenção da RVS, ou seja, a ausência de HCV-RNA na 12^a (RVS12) ou 24^a (RVS24) semana após o término do tratamento. A realização do teste para identificação do HCV-RNA por método de biologia molecular está indicada para confirmar o diagnóstico de hepatite C crônica imediatamente antes de iniciar o tratamento, e na 12^a ou 24^a semana após o término do tratamento, para avaliar a eficácia terapêutica. A mensuração do HCV-RNA deve ser realizada por metodologia de PCR em tempo real com limite de detecção de < 12 UI/MI (EASL, 2017; AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES; INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICA, 2017).

O Simeprevir um inibidor da protease NS3/4A do HCV, que bloqueia o processo pós-traducional da poliproteína nos sítios de clivagem NS3/NS4A, NS4A/NS4B, NS4B/NS5A e NS5A/NS5B, prevenindo a liberação de proteínas funcionais não estruturais (PAWLOTSKY, 2014). Possui atividade contra os genótipos 1, 2, 4, 5 e 6 e baixa barreira genética à resistência viral, exceto o genótipo 3. É administrado por via oral, uma vez ao dia com a refeição. Sua biodisponibilidade absoluta média após uma dose única oral de 150 mg (AASLD, 2015; EASL, 2015).

O Sofobusvir é um análogo de nucleotídeo que inibe a polimerase viral NS5B, enzima essencial para a replicação do vírus, atuam como falsos substratos para a enzima RNA-dependente-RNA-polimerase e encerram a cadeia após serem incorporados ao RNA viral recém-sintetizado. Por possuir um mecanismo de ação de amplo espectro, o SOF é indicado para o tratamento de todos os genótipos, com alta barreira genética à resistência viral (PAWLOTSKY, 2014). Tem ação contra todos os genótipos, com elevada eficácia quando combinado com outros DAAs. É uma droga potente, com poucos efeitos colaterais e elevada barreira genética (ATIA, et al, 2018). O SOF é de administração oral, uma vez ao dia, na dose de 400 mg (BRASIL, 2015).

O Daclastavir é um inibidor da proteína NS5A, bloqueando sua ação na regulação da replicação viral, impedindo a montagem e liberação de partículas virais (PAWLOTSKY, 2013). O DCV pode fazer parte de esquemas de tratamento para pacientes infectados pelos seis genótipos e possui baixa barreira genética à resistência viral (EASL, 2015; PAWLOTSKY, 2014). O DCV é administrado uma vez ao dia, com ou sem alimentos, na dose de 60 mg, com as concentrações plasmáticas máximas ocorrendo entre 1 e 2 horas (BRASIL, 2015).

Novas atualizações do PCDT foram realizadas nos anos de 2017 e 2018. Outras drogas foram incorporadas para o tratamento da hepatite C e, atualmente, o tratamento está disponível para todas as pessoas, independentemente de grau de fibrose hepática, cirrose ou outras comorbidades (BRASIL, 2017; BRASIL, 2018).

O viekirapak® é composto pela associação do Ombitasvir/Veruprevir/Ritonavir em combinação com o Dasabuvir. O Ombitasvir trata-se de um inibidor de NS5A. Veruprevir é um inibidor da protease NS3/4^a, Ritonavir é um potencializador farmacocinético e o Dasabuvir um inibidor não nucleosídico da polimerase NS5B. De acordo com o PCDT 2017/2018, esse esquema é indicado para pacientes mono infectados com HCV genótipo 1a sem cirrose, e para genótipos 1b sem ou com

cirrose Child-Pugh A. É contra indicado em pacientes transplantados por interação com o imunossupressor Tacrolimus (BRASIL, 2017; BRASIL, 2018).

Mais recentemente atualização foi em 2019, com introdução de novos esquemas incorporadas ao SUS; entre elas, algumas são pangenotípicas, ou seja, podem ser utilizadas para qualquer genótipo da hepatite C, dispensando a realização de exames de genotipagem. Os novos medicamentos que fazem parte do arsenal do novo PCDT são associações de elbasvir/grazoprevir, ledipasvir/sofosbuvir, glecaprevir/pibrentasvir e sofosbuvir/velpatasvir. Ao fim do tratamento, é muito importante realizar exames laboratoriais de avaliação do HCV-RNA para verificação da cura ou resposta virológica sustentada (RVS) (BRASIL, 2019). Em 2019 novos esquemas DAAs, foram incluídos ao protocolo de tratamento:

- Ledipasvir/Sofosbuvir (Harvoni®), é indicado para o tratamento de pacientes adultos com HCC exclusivamente pelo genótipo 1, podendo ser utilizado ou não em combinação com a RBV. A dose indicada é de um comprimido de Harvoni® (90 mg de ledipasvir e 400 mg de sofosbuvir) uma vez por dia por 12/24 semanas (BRASIL, 2018). O Ledipasvir é um inibidor do HCV voltado à proteína NS5A, que é essencial tanto para a replicação do RNA. Sofosbuvir é um inibidor pan-genotípico da RNA polimerase dependente de RNA NS5B do HCV, que é essencial para a replicação viral. Ao bloquear essas proteínas, o medicamento impede que o HCV se multiplique e infecte novas células.
- Elbasvir/Grazoprevir (Zepatier®), é indicado no tratamento da HCC de pacientes adultos dos genótipos 1 ou 4 em adultos. É administrado por via oral. A dose indicada é de um comprimido de Zepatier® (50 mg de elbasvir e 100 mg de grazoprevir) uma vez por dia, por tratamento de 12 semanas (BRASIL, 2018). O elbasvir é um inibidor da NS5A do HCV que é essencial para a replicação do RNA viral e agregação dos víriões. O grazoprevir é um inibidor da protease NS3/4A do HCV que é necessária para a clivagem proteolítica da poliproteína codificada do HCV (nas proteínas maduras NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B) e é essencial para a replicação viral (EASL 2017; ASSELAH, 2017).
- Glecaprevir/Pibrentasvir (Maviret®) é indicado no tratamento da HCC, para os genótipos 1, 2, 3, 4, 5 e 6, em pacientes sem cirrose ou com cirrose compensada, também indicada para pacientes com doença renal moderada a grave e aqueles que estão em diálise. Ele é utilizado para retratamento

indicado para infectados que não obtiveram a cura ao realizar tratamento com os medicamentos de uso oral livres de interferon, contendo um inibidor de NS5A ou um inibidor de protease NS3/4A. É administrado por via oral. A dose indicada é de três comprimido de Maviret® (100 mg de glecaprevir e 40 mg de pibrentasvir) uma vez por dia, por 8 semanas de tratamento (BRASIL, 2018). São de dois agentes antivirais de ação direta pangenotípicos, glecaprevir (inibidor da protease NS3/4A) e pibrentasvir (inibidor de NS5A), que atuam em múltiplas etapas do ciclo de vida do HCV. O glecaprevir é um inibidor pangenotípico da protease NS3/4A de HCV, a qual é necessária para clivagem proteolítica da poliproteína codificada do HCV (em formas maduras das proteínas NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B). O pibrentasvir é um inibidor pangenotípico da NS5A de HCV, a qual é essencial para replicação viral e montagem do vírionn (BRASIL, 2018).

- Sofosbuvir/Velpatasvir (Epclusa®) é indicado para o tratamento da HCC em adultos infectados pelos genótipos 1 a 6. A dose recomendada é um comprimido de com sofosbuvir 400mg e velpatasvir 100mg, tomado por via oral, uma vez por dia, durante 12 semanas. Para pacientes com cirrose descompensada deve-se associar a RBV. O VEL é um inibidor do HCV dirigido à proteína NS5A do HCV, que é essencial para a replicação do RNA e para a agregação de vírions do HCV. Em estudos in vitro de seleção de resistência e de resistência cruzada indica-se que o modo de ação do VEL tem como alvo a NS5A (BRASIL, 2018).

Todos os medicamentos elencados atuam diretamente no HCV, interrompendo a sua replicação, e constituem avanços recentes no tratamento HCC (EASL 2017). As atuais opções terapêuticas apresentam as seguintes vantagens: facilidade posológica, tratamento por menor período de tempo e com menos efeitos adversos, menor necessidade de exames de biologia molecular para avaliação do tratamento e melhores resultados em comparação com as modalidades de tratamento anteriormente utilizadas (ASSELAH, 2017).

Na Região Europeia da OMS cerca de 15 milhões de pessoas vivem com hepatite C (2,0% dos adultos). Dois terços das pessoas infectadas vivem na Europa Oriental e na Ásia Central. A hepatite C causa cerca de 86.000 mortes por ano nos países membros europeus da OMS. A incidência de hepatite C é de 8,7 por 100.000

pessoas nos Estados-Membros da União Europeia, com alta prevalência em pessoas que usam drogas injetáveis (WHO, 2021).

No Brasil cerca de 130 mil brasileiros já se recuperaram da hepatite C após a introdução dos DAAs, desde a incorporação dos medicamentos no SUS, em 2015. Entre janeiro 2019 e setembro de 2020, o MS já distribuiu 61.439 tratamentos para tratar o HCV. O total de pacientes que receberam o medicamento 130.969 representa 23% da meta pretendida pela OMS para a eliminação da infecção no país até 2030. Além disso, cerca de 40% dos tratamentos realizados com DAA no Brasil ocorreram entre 2019 e 2020, evidenciando os grandes avanços das políticas de combate à hepatite C (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

A introdução, dos regimes com DAAs de segunda geração transformou o tratamento da hepatite C, melhorando significativamente as taxas de RVS com resultados acima de 90%, mostrando um excelente perfil de segurança, apresentando ainda tolerabilidade favorável (FALADE-NWULIA et al., 2017). A maioria dos estudos vem mostrando que a obtenção RVS pode estar associada à melhora da função hepática, ao aumento de sobrevida, à diminuição da fila de transplante e até mesmo à redução no risco de ocorrência de hepatocarcinoma (BELLI et al., 2016; IOANNOU; GREEN; BERRY, 2018).

No estudo de COSMOS randomizado de fase 2, avaliou-se a combinação de SMV e SOF, com ou sem RBV, por 12 ou 24 semanas em pacientes infectados pelo genótipo 1. A primeira coorte desse estudo foi composta por amostra de 80 pacientes não respondedores a tratamento prévio com escore METAVIR F0-F2 e apresentou RVS de 12 semanas de 90%. A segunda coorte do estudo contou com amostra de 87 pacientes não respondedores a tratamento prévio e pacientes virgens de tratamento, com fibrose avançada (F3-F4), e apresentou RVS de 12 semanas de 94% (LAWITZ, et al., 2014).

No estudo TOPAZ III, um ensaio multicêntrico aberto de fase 3b conduzido em 16 centros no Brasil, mostrou a associação Viekira Pak ± RBV, teve sua eficácia e segurança avaliada através de um estudo de fase IIIb. Nesse estudo, dos 222 pacientes incluídos, a taxa de RVS12 global foi de 96,4%. Quando dividido em grupos, o grupo F3 alcançou RVS12 de 97%, e o F4 de 96%. Quanto ao grupo de virgens de tratamento e experimentados, o primeiro teve RVS12 de 96%, 97% respectivamente (PESSOA et al., 2018).

Um estudo realizado no sul do Brasil avaliou a resposta de pacientes com infecção crônica pelo HCV tratados com diferentes regimes de DAAs (SOF + SMV, SOF + DCV, Viekira Pak® e SOF + Ledipasvir) com um total de 219 pacientes. A RVS global foi de 95%. Quando avaliada a RVS em relação a presença ou ausência de cirrose, a taxa de RVS atingida foi de 92,7% e de 96,7%, respectivamente. A RVS global segundo genótipo foi de 95,8% para genótipo 1 e 90,7% para o genótipo 3 (SETTE-JR, H. et al, 2017).

Esses estudos, de nível nacional e internacional, demonstram altas taxas de RVS, independente do genótipo, histórico de terapia prévia, do estagio de fibrose hepática e presença ou não de cirrose.

Em relação aos estudos que avaliam a resposta ao tratamento em transplantados de fígado, O estudo ALLY-1, prospectivo de fase 3, envolvendo todos os genótipos, e pacientes submetidos ao tratamento com SOF+DCV+RBV por 12 semanas e divididos em duas coortes: pacientes cirróticos compensados/descompensados e transplantados de fígado. Nesse estudo, o grupo dos cirróticos alcançou 83% de RVS global e o dos transplantados de fígado 94%. Quando avaliado por genótipo, pacientes cirróticos genótipo 1 obtiveram 76% de RVS, 1b 100% e genótipo 3 RVS de 83,3%. Pacientes transplantados com genótipo 1 tiveram 97% de RVS, 1b 90% e genótipo 3 RVS de 91% (POORDAD et al., 2016), semelhante ao estudo ANRS CULPIT a taxa global de RVS de 96% nos transplantados (COILLY et al., 2016).

Atualmente são poucos os estudos realizados no Brasil que envolvem indivíduos transplantados de fígado (MUCENIC et al., 2018; ARAUJO et.al., 2019; ZANAGA et al., 2019). No estudo de Zanaga e colaboradores, realizado em Campinas/SP, a taxa de RVS foi 98%, com apenas uma única falha virológica, que ocorreu em paciente cirrótica, previamente experimentada a interferon, com infecção pelo HCV genótipo 3, tratada por 12 semanas (ZANAGA et al., 2019).

No estudo de Araújo et. al (2019) foram tratados 68 pacientes transplantados, com genótipos 1 (51,4%) e 3 (45,6%), todos tratados com esquema SOF e DCV com RBV por 12 semanas. O autor demonstrou taxa de RVS de 95,5%, com apenas três falhas virológicas. Mucenic et al (2018) em um estudo de vida real de 40 transplantados brasileiros, predominantemente com HCV do genótipo 3 (66,7%), tratados por 12 semanas com SOF e DCV sem RBV (28 pacientes) ou com RBV (11 pacientes).

Todos os estudos realizados a nível nacional e em diversas regiões do Brasil encontram-se demonstrados na tabela 1. Na região Sul, pesquisa realizada por Ferreira et al., (2018), Holzmann et al.,(2018) obtiveram taxa de RVS de 91,60% e 93,40% respectivamente. No Nordeste, Rolim et al., (2018), em Fortaleza/Ceará, encontraram 95% de RVS. Na região Sudeste, o estudo a nível nacional, multicêntrico, Cheinquer et al., (2017), avaliou diversas cidades, com RVS variando de 88% a 97%.

Tabela 2- Estudos brasileiros, que demonstram a resposta virológica sustentada (RVS) após tratamento com os esquemas de antivirais de ação direta de segunda geração em pacientes com hepatite C crônica publicados entre 2017 a 2021.

Autor/Ano	Local do Estudo	Pacientes (n)	RVS (%)
<i>Vivaldini et al., 2021</i>	Norte, Nordeste, Sudeste, Sul e Centro-oeste	11.308	95% e 95,9%
<i>Borges Neto et al., 2020</i>	Belém/PA	68 *Transplantados	95,5%
<i>Araujo et al., 2019</i>	Porto Alegre	305	97,2%
<i>Neto et al., 2020</i>	Belém do Pará	250	97,20%
<i>Torres et al., 2019</i>	Rio Grande do Sul/RS	252	90,5%
<i>Zanaga et al., 2019</i>	Campinas/SP	55 *Transplantados	98%
<i>Ferreira et al., 2018</i>	Sul do Brasil	296	91,6%
<i>Holzmann et al., 2018</i>	Rio Grande do Sul	1.002	88,5% a 100,0%
<i>Lobato et al., 2018</i>	20 centros Nacional	3.939	90%
<i>Medeiros et al., 2017</i>	Rio de Janeiro	102	90%
<i>Miotto et al., 2018</i>	Campinas/SP	527	90,5% e 96%
<i>Mucenic et al., 2018</i>	Porto Alegre	40 *Transplantados	90%

<i>Rolim et al., 2018</i>	Fortaleza/CE	290	95%
<i>Siqueira et al., 2018</i>	Curitiba, RS	54	88,8%
<i>Pessoa et a., 2018</i>	Nacional Multicentrico	214	96,4%
<i>Cheinquer et a., 2017</i>	Nacional (Multicêntrico)	5.000	90%
<i>Miotto et al., 2017</i>	Campinas/SP	214	93,7%
<i>Sette-jr et al., 2017</i>	Sul do Brasil	209	95%

Fonte: Autora

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a efetividade dos esquemas DAAs no tratamento da hepatite C em pacientes transplantados de fígado e não transplantados submetidos ao tratamento por 12 ou 24 semanas e identificar a presença ou não de fatores preditivos de resposta, em centros de referência para hepatite C na cidade de Recife-PE, no período de dezembro de 2015 a outubro de 2020.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar a efetividade dos antivirais de ação direta (DAAs) de segunda geração no tratamento da hepatite C em pacientes transplantados de fígado e não transplantados através da taxa de resposta virologia sustentada (RVS);
2. Identificar as principais reações adversas associadas aos tratamentos da hepatite C, em pacientes transplantados de fígado;
3. Avaliar a evolução dos marcadores aspartato (AST) e alanina (ALT) aminotransferases, contagem de plaquetas e índices APRI e FIB-4 após tratamento de pacientes com hepatite C crônica com DAAs de segunda geração, que apresentaram a resposta virológica sustentada (RVS).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 POPULAÇÕES, LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO

Os pacientes foram selecionados em três centros de referência em hepatites virais, localizados na região metropolitana de Recife, no período de dezembro de 2015 a outubro de 2020. Para o primeiro estudo foram recrutados pacientes transplantados de fígado com hepatite C tratados com os esquemas DAAs de segunda geração na unidade de transplante (UTF) do Hospital Oswaldo Cruz /UPE e no setor de Hepatologia do Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP) no período de dezembro de 2015 a novembro de 2019.

Para o segundo estudo foram selecionados pacientes não transplantados com hepatite C crônica, tratados com os DAAs de segunda geração, atendidos no Hospital das Clínicas/UFPE, no período de dezembro de 2015 a outubro de 2020.

4.2 DESENHO DO ESTUDO

A pesquisa resultou em dois estudos.

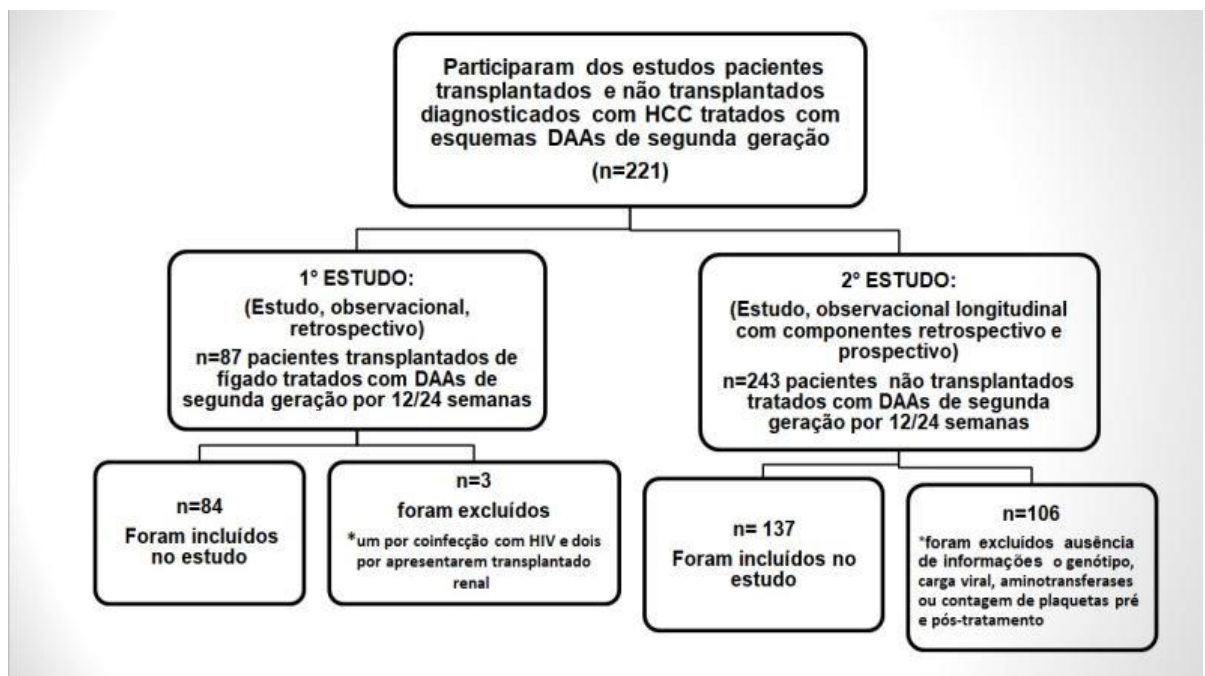
Primeiro Estudo: *Impacto dos antivirais de ação direta no tratamento da hepatite c crônica em pacientes transplantados de fígado em dois centros universitários de Pernambuco: um estudo de vida real.*

Trata-se de um estudo observacional retrospectivo, incluímos pacientes transplantados hepáticos com diagnóstico de HCC, os quais haviam sido tratados com sofosbuvir e daclatasvir ou simeprevir, com ou sem RBV.

Segundo Estudo: *Evolução dos índices APRI e FIB-4, aminotransferases e plaquetas após cura virológica da hepatite C com os novos DAAs*

Trata-se de estudo observacional longitudinal, com componentes retrospectivo e prospectivo que incluiu indivíduos com diagnóstico de HCC, tratados com antivirais de ação direta (DAAs) de segunda geração.

Figura 01- Representação esquemática da distribuição da população do estudo



Fonte: Dados da pesquisa

4.3 CRITERIOS DE INCLUSÃO

Primeiro Estudo:

Foram incluídos, indivíduos maiores de 18 anos, de ambos os sexos, transplantados de fígado com infecção crônica pelo vírus da hepatite C, diagnosticados pela presença do anti-HCV, há mais de seis meses, e HCV-RNA por técnica de PCR quantitativo, tratados com os esquemas DAAs de segunda geração.

Segundo Estudo:

Foram incluídos, indivíduos maiores de 18 anos, de ambos os sexos, não transplantados com infecção crônica pelo vírus da hepatite C, diagnosticado pela presença do anti-HCV, há mais de seis meses, e HCV-RNA por técnica de PCR quantitativo, tratados com os esquemas DAAs de segunda geração.

4.4 CRITERIOS DE EXCLUSÃO

Primeiro Estudo:

Gestantes, crianças e coinfectados pelo HIV, ou com outros tipos transplantes (não-hepáticos), indivíduos com ausência de informação sobre o tipo de genótipo, carga viral (HCV-RNA), transaminases e contagem de plaquetas pré e pós-tratamento com os DAAs.

Segundo Estudo:

Gestantes, crianças, prontuários com ausência de informação sobre o tipo de genótipo, carga viral (HCV-RNA), transaminases e contagem de plaquetas pré e pós-tratamento com os DAAs.

4.5 OPERACIONALIZAÇÃO DA PESQUISA

4.5.1 Método de coleta

Após a inclusão do paciente no estudo, foi preenchido um Questionários/formulário padronizado para a pesquisa (APENDICE B) ou coletadas por meio dos prontuários registrados em cada consulta durante o uso dos DAAs, foram coletadas as informações demográficas (idade, gênero, raça), os dados antropométricos (peso e altura) e informações referentes a história clínica prévia ao tratamento, sendo estas: presença de comorbidades; como hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus (DM), estágio de fibrose hepática, história de tratamento prévio para o HCV e tipo de resposta ao último tratamento realizado; subgenótipo do vírus HCV e carga viral prévia ao tratamento, verificou-se a ocorrência de transplante de fígado prévio ao tratamento, desenvolvimento de carcinoma hepatocelular (CHC).

Foi realizada análise laboratorial incluiu contagem de plaquetas e dosagem de aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), GGT (gamaglutamil Transferase) e FA (Fosfatase alcalina). As amostras de sangue foram coletadas em jejum, por punção venosa periférica. Os exames laboratoriais foram realizados por método automatizado.

Para cada paciente, foram seguidos os critérios de estadiamento da doença hepática adotados pelo médico no momento da solicitação do tratamento. Todos os dados coletados foram dispostos em planilha do Microsoft® Excel®, para posterior análise.

Primeiro Estudo:

As variáveis incluídas no primeiro estudo foram: idade, sexo, carga viral, genótipo de HCV, estadiamento de fibrose hepática (determinada por biópsia hepática ou escores APRI e/ou FIB4), marcadores laboratoriais de gravidade de doença hepática aspartato (AST) e alanina (ALT) aminotransferases, GGT (gamaglutamil Transferase) e FA (Fosfatase alcalina), status de tratamento (virgem ou experimentado), imunossuppressores em uso, regime terapêutico, duração e

resposta ao tratamento com DAAs. A verificação da incidência de reações adversas, foram acompanhados por meio dos prontuários registrados em cada consulta durante o uso dos DAAs.

Segundo Estudo:

Para o segundo estudos foram incluídas as variáveis: idade, sexo, carga viral, genótipo de HCV, marcadores laboratoriais de gravidade de doença hepática aspartato (AST) e alanina (ALT) aminotransferases, contagem de plaquetas (PLT) e escores APRI e FIB4, status de tratamento (virgem ou experimentado), tipo de regime terapêutico, duração e resposta ao tratamento com DAAs confirmada pela RVS.

4.6 DEFINIÇÃO DE TERMOS E CATEGORIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS

4.6.1 Variáveis dependentes

Tabela 3- Tabela de categorização das variáveis independentes.

Variável	Definição	Categorização
Resposta Viroológica sustentada (RVS)	Negativação da carga viral 3 meses ou mais após o final do tratamento	Variável categórica dicotômica: Sim (1) Não (2)

Fonte: dados da pesquisa.

4.6.2 Variáveis independentes

Tabela 4- Tabela de categorização das variáveis independentes.

Variável	Definição	Categorização
Sexo	Refere-se ao sexo biológico do paciente.	Variável categórica dicotômica: Masculino Feminino
Idade (>18 anos)	Intervalo de tempo entre a data do nascimento e data de realização da entrevista (em anos).	Variável numérica discreta.
Raça	Cor ou raça auto declarável pela pessoa durante entrevista.	Variável categórica: Branco (1) Pardo (2) Negro (3)
Comorbidades	Ocorre quando duas ou mais doenças associadas	Variável categórica: Diabetes (1) Hipertensão arterial (2) Hepatite B (3) Obesidade (4) HIV
Tipos de Genótipo e subgenótipo	Variabilidade na estrutura primária de seu RNA e pode, de acordo com sua sequência, ser agrupado, por homologia	Variável categórica: Genótipo 1(a,b,c..) (1) Genótipo 2 (2) Genótipo 3 (3)
APRI	Ferramenta calculadora:	Variável quantitativa:

	AST para Índice de Proporção de Plaquetas (APRI) (AST / limite superior do normal * 100 / contagem de plaquetas).	≤ 0.5 (< F2) $>1,5$ ($\geq$ F2)
FIB-4	A pontuação da Fibrose 4 (FIB-4) (Idade x AST) / (Plaquetas x((ALT) ^{1/2})	Variável quantitativa: $\leq 1,45$ (F2) $>3,25$ ($\geq$ F2)
Estagio de fibrose	Classificação pelos METAVIR	Variável categórica: F0 (1) F1 (2) F2 (3) F3 (4) F4 (5)
Uso de Ribavirina	Fármaco antiviral age inibindo a replicação do vírus da hepatite.	Variável categórica dicotômica: Sim (1) Não (2)

Uso de Imunossupressor	São medicamentos, usados para evitar a rejeição do órgão transplantado	Variável categórica dicotômica: Sim (1) Não (2)
Uso anterior da terapia dupla com (Peg-interferon e Ribavirina) e Terapia Tripla (telaprevir e o boceprevir)	Medicamento inibe a replicação do vírus da Hepatite.	Variável categórica dicotômica: Sim (1) Não (2)
Esquemas terapêuticos com as DAAS	Antivirais de Ação Direta inibe a replicação do vírus da Hepatite.	Variável categórica: Sofosbuvir +Simeprevir± Ribairina (1) Sofosbuvir +Daclatasvir± Ribairina (2) Sofosbuvir +Daclatasvir+Ribavirina (3) Sofosbuvir+ ledipasvir ± Ribairina (4) Sofosbuvir+ Velpatasvir ± Ribairina (5) Ombitasvir+ Veruprevir +Ritonavir + Dasabuvir Velpatasvir ± Ribairina (6)
Transplante de fígado	Procedimento cirúrgico no qual um fígado é transplantado para outra	Variável categórica dicotômica: Sim (1)

	pessoa. É uma conduta terapêutica indicada para pacientes com doenças crônicas ou incuráveis do fígado	Não (2)
Tempo de tratamento (12 ou 24 semanas)	Tempo de utilização dos novos esquemas para hepatite C.	Variável categórica: 12 semanas (1) 24 semanas (2)
Níveis séricos dos marcadores de agressão hepática para hepatite C (AST/ALT; GGT)	Fazem parte dos testes para a avaliação da função hepática as enzimas ALT/TGP (alanina aminotransferase), AST/TGO (aspartato aminotransferase), GGT (gamaglutamil Transferase), FA (Fosfatase alcalina). Avalia-se então a integridade do fígado. As duas primeiras enzimas são predominantemente hepatocelular, e GGT e FA são predominantemente colestáticas. $LNS = \frac{\text{Valor do teste}}{\text{Referencia do kit}}$	Variável quantitativa: ≤ 1 vez o limite superior da normalidade (LSN) = Normal (1) $> 1-1,5$ vezes o limite superior da normalidade (LSN) = Alterado (2)
Níveis séricos dos marcadores de função hepática (INR, albumina, bilirrubinas e	Exames bioquímicos que investigam a função do fígado e também a presença de lesão hepatocelular e de vias	Variável quantitativa: ≤ 1 vez o limite superior da

contagem plaquetas)	de	biliares.	normalidade(LSN) = Normal (1) >1-1,5 vezes o limite superior da normalidade (LSN) = Alterado (2)
------------------------	----	-----------	---

Fonte: Dados da pesquisa.

4.7 ESQUEMAS ANTIVIRAIS

Em ambos os estudos, a escolha do esquema de tratamento específico para DAAs foi baseada em critérios médicos de acordo com as diretrizes propostas pelo Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções (PCDT) de 2015/2017/2019, disponibilizado pelo MS, com base no genótipo, na prévia experimentação com DAA e no estágio de fibrose. Todos os regimes de tratamento foram administrados por um período de 12 ou 24 semanas. A ribavirina foi incluída no esquema de tratamento nos casos de cirrose e ajustada pelo peso (1000 mg / dia para pacientes <75 kg e 1250mg / dia para pacientes ≥ 75 kg) e pela taxa de filtração glomerular. Mudanças nas dosagens de RBV foram documentadas durante o tratamento.

Os DAAs disponíveis no momento do estudo eram: sofosbuvir + daclatasvir (SOF / DCV) com ou sem RBV; sofosbuvir + simeprevir (SOF / SMV) com ou sem RBV; ledipasvir / sofosbuvir (LDV / SOF) com ou em RBV; sofosbuvir / velpatasvir (SOF / VEL) com ou em RBV; VIEKIRA PAK®: A associação dos fármacos ombitasvir, dasabuvir veruprevir e ritonavir;

Os esquemas terapêuticos foram prescritos pelos médicos Hepatologistas de cada centro de referência, de acordo com as necessidades de cada paciente, sendo disponibilizado de acordo com o tipo de genótipos e subgenótipos, o tempo do tratamento foi definido de acordo com a presença ou não de cirrose e doença renal, de acordo com PCDT disponibilizado pelo Ministério da Saúde (MS) (BRASIL, 2017; BRASIL, 2019).

Com relação ao tratamento com os DAA, foram coletadas as seguintes informações: esquema terapêutico proposto a cada paciente, duração do tratamento e datas de início e fim até a confirmação da RVS através a quantificação do HCV-RNA. Para verificar-se a resposta à terapia, a quantificação do HCV-RNA (carga viral) foi realizada ao final do tratamento e na 12^a e 24^a semanas após o fim do tratamento. Para pacientes tratados por 12 semanas, a carga viral de final de tratamento foi coletada na 12^a semana de terapia. No caso de pacientes que receberam terapia por 24 semanas, a coleta da carga viral de final de tratamento foi realizada na 24^a semana de terapia.

4.8 EXAMES LABORATORIAIS

4.8.1 Análise bioquímica e hematológica

Os dados laboratoriais e clínicos descritos anteriormente foram coletados por meio do acesso ao sistema informatizado do hospital. As análises do primeiro estudo foram realizadas no Laboratório de análises clínicas do Hospital Oswaldo Cruz/UPE e no laboratório do IMP. A análise bioquímica e hematológica do segundo estudo foi realizada no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da UFPE.

As avaliações clínicas e as coletas dos exames laboratoriais foram realizadas nos períodos: até 3 meses antes do início do tratamento, na semana 4 do tratamento (apenas no primeiro estudo), ao final do tratamento, e após 12 ou 24 semanas da conclusão do tratamento.

A análise bioquímica e hematológica sérica de ambos os estudos, incluiu níveis das enzimas hepáticas (AST, ALT, GGT), FA e quantificação de plaquetas. Para as amostras sorológicas foram quantificadas utilizando-se kits para automação da marca *Beckman Coulter*® em equipamento de automação au680® e metodologia enzimática conforme preconiza o fabricante. A quantificação de plaquetas foi realizada através do equipamento de automação para hematologia Pentra 120® (Horiba ABX Diagnostics).

Para avaliação da atividade enzimática e do FA, os resultados obtidos foram transformados em valores normalizados (atividade enzimática em U/L dividida pelo

valor de referência correspondente na tabela 5, de acordo com as instruções do fabricante:

Tabela 5- Valor de Referência, ALT, AST, GGT, FA.

Valores de referência	Homens	Mulheres
ALT (U/L)	< 41	< 31
AST (U/L)	< 38	< 32
GGT (U/L)	< 50	< 32
Valores de referência	Adultos	
FA (U/L)	65-300	

A quantificação de plaquetas foi realizada através do equipamento de automação para hematologia Pentra 120® (Horiba ABX Diagnostics).

Tabela 6- Valor de Referência Plaquetas.

Valores de referência	Adultos
PLAQUETAS (mm ³)	150000 a 450000

No primeiro estudo, foi analisada hemoglobina, bilirrubina total e creatinina. Para hemoglobina, através do método CELL-DYN RUBY, para bilirrubina total, foi utilizado Diclorofenildiazônio Diasys, para creatinina, Architect Abbott, automação ACCL, 3000.

Tabela 7- Valor de Referência Hemoglobina e Bilirrubina Total.

Valores de referência	Homens	Mulheres
HEMOGLOBINA (g/dl)	14,0 - 18,0	12,0 - 16,0
Valores de referência	Adultos	
BILIRRUBINA TOTAL (mg/dl)	< 1.0	

4.8.2 Avaliação da carga viral (quantificação do HCV-RNA)

A quantificação do HCV-RNA foi realizada no Laboratório Central de Pernambuco (LACEN-PE) a partir da plataforma Abbott HCV em tempo real, Abbott Diagnostics®, pelo método PCR em tempo real (qPCR), cobrindo uma faixa de quantificação de 12 UI/ml a 100 milhões UI/ml, utilizando o equipamento modelo *m2000 Real Time System* (Abbott®). (MICHELIN et al., 2017). A região 5'UTR foi utilizada como alvo de detecção para a carga viral do HCV (KESLI, 1989).

O HCV-RNA foi quantificado até 3 meses antes do início do tratamento, na 4ª semana de tratamento, ao final do tratamento e na semana 12 ou 24 após o término do tratamento, para avaliar a RVS. Foi considerada RVS níveis indetectáveis de HCV-RNA 12 ou 24 semanas após o término da terapia. Falha virológica foi definida como HCV-RNA detectável após 12 ou 24 semanas do término do tratamento.

4.8.3 Avaliações clínicas e laboratoriais, determinação de APRI e FIB-4

A avaliação os biomarcadores séricos de gravidade de doença hepática aspartato (AST) e alanina (ALT) aminotransferases, contagem de plaquetas (PLT) e escores APRI (com base na razão aminotransferase aspartate [AST] sob o número de plaquetas) e FIB-4 (com base na idade, aminotransferase aspartate [AST] e alanina aminotransferase [ALT] e contagem de plaquetas) (WAI et al., 2003; STERLING et al., 2006).

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para o primeiro artigo, foi realizada a análise descritiva dos dados demográficos e clínicos dos pacientes transplantados. Foram avaliadas as frequências das variáveis qualitativas e os valores de média $\pm$ desvio padrão ou mediana (percentil 25%-percentil 75%) das variáveis contínuas. A distribuição

normal das variáveis contínuas foi verificada aplicando-se o teste de normalidade de Shapiro-Wilk.

As diferenças entre as medidas de avaliação seriada dos parâmetros bioquímicos, hematológicos e estadiamento da fibrose hepática (antes do início do tratamento, na semana 4, ao fim do tratamento e após 12 ou 24 semanas da conclusão do tratamento) foram avaliadas através do teste t pareado, quando as análises de normalidade e homogeneidade de variância permitiram, ou pelo teste de postos sinalizados de Wilcoxon, para dados com distribuição não paramétrica. As diferenças foram consideradas estatisticamente significantes quando $p < 0,05$. Para realização da análise estatística foi utilizado o *software SPSS Statistics*, versão 25 para Windows (IBM Corporation, Amonk, NY, EUA).

Para o segundo estudo: Os dados clínicos e laboratoriais foram analisados utilizando-se os *softwares SPSS Statistics*, versão 25 para *Windows* (IBM Corporation, Amonk, NY, EUA) e *GraphPadPrism 6* (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA).

As variáveis qualitativas foram descritas em frequências absolutas e relativas, e intervalo de confiança de 95% ($IC_{95\%}$), enquanto os dados quantitativos foram analisados por média e desvio padrão, quando apresentaram uma distribuição normal, verificada pelo teste de Shapiro-Wilk, ou por mediana e percentis 25 e 75 ($P_{25}-P_{75}$), quando a distribuição observada foi não paramétrica.

Para comparação das proporções entre dois grupos, foi utilizado o teste de Qui-quadrado ou Exato de Fisher, a depender do número da amostra, por estrato analisado. As distribuições normais entre dois grupos independentes foram comparadas através do teste t de Student, enquanto que para variáveis não paramétricas foi utilizado o teste de Mann-Whitney.

As comparações entre as características bioquímicas e de estágio de fibrose, antes do tratamento e 12 e 24 semanas após o tratamento, foram avaliadas através do teste de postos sinalizados de Wilcoxon para dados com distribuição não paramétrica. As diferenças foram consideradas estatisticamente significantes quando $p < 0,05$.

5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da UFPE, sob o protocolo de número 1.541.324/2016 (Anexo A) e sob o protocolo de número 2.383.189/2017 (Anexo B).

O pesquisador foi autorizado a consultar os prontuários dos pacientes no SAME, quando necessário, com a finalidade de complementação da ficha clínica com dados referentes aos mesmos (Anexo C).

A proposta da pesquisa foi apresentada aos participantes do estudo de forma clara e simples. Participaram do estudo aqueles que confirmaram a sua participação espontânea através da assinatura do TCLE (Apêndice A)

6 RESULTADOS

Os dados obtidos a partir deste estudo resultaram em dois artigos para publicação apresentados no seguimento abaixo. O artigo 1 foi submetido à revista *Journal of the São Paulo Institute of Tropical Medicine* e o artigo 2 à revista *CLINICS* (USP, Impresso).

6.1 ARTIGO 1 - IMPACTO DOS ANTIVIRAIS DE AÇÃO DIRETA NO TRATAMENTO DA HEPATITE C CRÔNICA EM PACIENTES TRANSPLANTADOS DE FÍGADO EM DOIS CENTROS UNIVERSITÁRIOS DE PERNAMBUCO: UM ESTUDO DE VIDA REAL

RESUMO

Introdução: A efetividade dos antivirais de ação direta (DAAs) no tratamento da hepatite crônica pelo HCV (HCC) em transplantados de fígado é pouco conhecida e fatores como a imunossupressão, interações medicamentosas, elevada viremia e intolerância à ribavirina podem reduzir a taxa de cura. **Objetivo geral:** Descrever a taxa de resposta virológica sustentada (RVS) em pacientes transplantados de fígado com HCC tratados com DAAs. **Metodologia:** Estudo de vida real de pacientes com HCC transplantados de fígado, tratados com a associação de sofosbuvir (SOF) e daclatasvir (DCV) ou simeprevir (SIM), com ou sem ribavirina, por 12 a 24 semanas. A efetividade do tratamento foi avaliada pela RVS 12 ou 24 semanas após o final do tratamento. **Resultados:** Foram avaliados 84 pacientes, com idade de $63,4 \pm 7,4$ anos, 59,6% com genótipo 1, 71,5% com fibrose hepática leve a moderada (METAVIR F1/F2) e tempo médio entre o transplante e o início do tratamento de 4 anos (2,1-6,6 anos). O esquema SOF + DCV foi utilizado em 58 (69%) pacientes. Ribavirina foi associada aos DAAs em 7 (8,3%) pacientes. A RVS foi alcançada por 82 (97,6%) pacientes. Nenhum evento adverso relevante foi atribuído à terapia com DAAs. Houve redução significativa de ALT, AST, GGT, FA e do índice APRI a partir da semana 4 de tratamento, que se manteve até 12/24 semanas pós tratamento. **Conclusão:** O tratamento com DAAs em pacientes transplantados de fígado propiciou elevada taxa de RVS e normalização dos níveis séricos das enzimas hepáticas, com poucos eventos adversos relevantes.

Palavras-chave: Hepatite C crônica; Antiviral de Ação Direta; Transplante de fígado; Sofosbuvir; Efetividade; Brasil.

INTRODUÇÃO

Estima-se em 1% a prevalência global da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV), correspondendo a 71,1 milhões de virêmicos no mundo. ⁽¹⁾⁽²⁾

A hepatite C crônica (HCC) representou a terceira maior causa de transplantes hepáticos nos Estados Unidos (EUA) em 2017, e, na Europa, nos últimos 15 anos, correspondeu a 54% das indicações de transplante por cirrose. ⁽²⁾⁽³⁾

No Brasil, estima-se que 1,5 a 1,7 milhões de pacientes estejam infectados pelo HCV ⁽²⁾, sendo os genótipos 1 e 3 ⁽⁴⁾ observados com maior frequência. Estes dois genótipos também são os mais frequentes no Nordeste brasileiro. ⁽⁵⁾ A HCC foi responsável por mais de 70% dos 46.314 óbitos por hepatites virais em nosso país, entre os anos de 2000 a 2015. ⁽⁶⁾

A resposta virológica sustentada (RVS), definida pela negativação do HCV após 12 ou mais semanas do término da terapia, associa-se à redução dos níveis séricos das enzimas hepáticas decorrente da melhora da atividade necro-inflamatória no parênquima hepático, com subsequente redução da progressão da fibrose hepática e da mortalidade. ⁽⁷⁾

Em pacientes que realizam transplante hepático com HCC em atividade, a recorrência da infecção no fígado transplantado é universal, com impacto negativo na sobrevida do enxerto e do paciente. ⁽³⁾⁽⁷⁾ Nesses pacientes, a carga viral pode estar mais elevada em comparação à pacientes não transplantados. ⁽⁷⁾

Devido à elevada taxa de reinfecção do enxerto e acelerada progressão da doença hepática, observa-se fibrose hepática em cerca de 30% a 40% dos pacientes transplantados com HCC, e progressão para cirrose em aproximadamente 5 anos. ⁽⁸⁾ De fato, a sobrevida após o transplante de fígado dos receptores com infecção pelo HCV é menor do que a dos transplantados sem infecção. ⁽⁷⁾

Por muitos anos, as terapias antivirais baseadas em interferon foram a principal opção de tratamento para a HCC ⁽⁷⁾. Em seguida, surgiu a primeira

geração de antivirais de ação direta (DAA), boceprevir e telaprevir, usados em combinação com interferon peguilado (PEG-INF) e ribavirina (RBV).⁽⁹⁾ Porém, esses esquemas terapêuticos apresentavam eficácia limitada e provocavam diversos efeitos colaterais, além de baixa taxa de RVS nos transplantados.⁽¹⁰⁾

Os primeiros estudos com o uso dos DAAs de segunda geração sofosbuvir, análogo nucleotídeo que inibe a polimerase do HCV, associado ao simeprevir, inibidor de protease, ou daclastavir, inibidor da região NS5A, no tratamento da HCC em transplantados de fígado revelaram taxas de RVS em torno de 80%, inferior à RVS observada em pacientes não-transplantados, acima de 90%.⁽¹¹⁾⁽¹²⁾

A partir de 2015, o Ministério da Saúde (MS) do Brasil disponibilizou para os pacientes do Sistema Único de Saúde (SUS) a terapia da HCC com sofosbuvir, associado ao simeprevir ou daclatasvir, combinados ou não à ribavirina.⁽¹¹⁾⁽¹⁴⁾ A indicação do tratamento para os transplantados foi considerada prioritária, independentemente do estágio de fibrose.⁽⁷⁾⁽¹⁴⁾

Embora os DAAs tenham revolucionado a terapia da HCC, existem fatores que podem reduzir a RVS nos transplantados de fígado, dos quais destacam-se a presença de comorbidades, interações medicamentosas, e a menor tolerância à ribavirina.⁽⁷⁾⁽¹⁴⁾

Na literatura, encontram-se alguns artigos publicados sobre o tratamento do HCV com os DAAs no Brasil, com a RVS variando entre 92 e 95%.⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾ Contudo, apenas três estudos incluíram exclusivamente pacientes transplantados de fígado, todos nas regiões Sudeste e Sul do país.⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾⁽²¹⁾

O objetivo deste estudo foi descrever a taxa de RVS após tratamento da HCC com sofosbuvir e daclatasvir ou simeprevir, com ou sem ribavirina, em pacientes submetidos ao transplante hepático, em um estudo de vida real, no Nordeste brasileiro.

PACIENTES E MÉTODO

Desenho do Estudo

Trata-se de estudo observacional retrospectivo, que incluiu indivíduos transplantados de fígado com diagnóstico de HCC, tratados com sofosbuvir e daclatasvir ou simeprevir, associados ou não à ribavirina.

Pacientes

Os pacientes foram selecionados em dois centros de referência em Hepatologia, localizados na região metropolitana de Recife, no período de dezembro de 2015 a março de 2019.

Foram incluídos pacientes com idade igual ou superior a 18 anos, transplantados de fígado com HCC diagnosticado pela presença do anti-HCV, há mais de 6 meses, e do HCV-RNA por técnica de PCR quantitativo, os quais foram tratados com DAAs de segunda geração. Foram excluídos do estudo gestantes e coinfectados pelo HIV, ou com outros transplantes (não-hepático). Os pacientes foram acompanhados até a avaliação da RVS na 12^a ou 24^a semana após o final do tratamento.

Durante este período, foram realizadas entrevistas e obtidos dados de prontuários, utilizando-se questionário padronizado para a pesquisa, que incluiu dados demográficos e características clínicas. As variáveis estudadas foram: idade, sexo, carga viral, genótipo de HCV, estadiamento de fibrose hepática (determinada por biópsia hepática ou escores APRI e/ou FIB4), status de tratamento (virgem ou experimentado), imunossupressores em uso, regime terapêutico, duração e resposta ao tratamento com DAAs. Todos os dados clínicos dos pacientes foram registrados em um banco de dados próprio da pesquisa.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CCS-UFPE), Recife, Brasil, sob o protocolo de número 2.383.189/2018. Todos os pacientes, que concordaram em participar do estudo, assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Avaliação Clínica e Laboratorial

As avaliações clínicas e as coletas dos exames laboratoriais foram realizadas nos períodos: até 3 meses antes do início do tratamento, na semana 4 do tratamento, ao final do tratamento, e após 12 ou 24 semanas da conclusão do tratamento.

A análise bioquímica e hematológica sérica incluiu hemoglobina (Hb), plaquetas, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), gamma-glutamil transferase (GGT), fosfatase alcalina (ALP), bilirrubina (Bt), creatinina (Cr) e albumina. Todas as análises foram realizadas nos laboratórios dos dois centros de referência e os dados laboratoriais foram coletados do prontuário ou através de sistema de informações dos laboratórios dos hospitais.

Avaliação da carga viral (quantificação do HCV-RNA)

A quantificação do HCV-RNA foi realizada no Laboratório Central de Pernambuco (LACEN-PE) a partir da plataforma Abbott HCV em tempo real, Abbott Diagnostics®, pelo método PCR em tempo real (qPCR), cobrindo uma faixa de quantificação de 12 UI/ml a 100 milhões UI/ml, utilizando o equipamento modelo *m2000 Real Time System* (Abbott®).⁽²²⁾ A região 5'UTR foi utilizada como alvo de detecção para a carga viral do HCV.⁽²³⁾

O HCV-RNA foi quantificado até 3 meses antes do início do tratamento, na 4ª semana de tratamento, ao final do tratamento e na semana 12 ou 24 após o término do tratamento, para avaliar a RVS. Foi considerada RVS níveis indetectáveis de HCV-RNA 12 ou 24 semanas após o término da terapia. Falha virológica foi definida como HCV-RNA detectável após 12 ou 24 semanas do término do tratamento.

Avaliação da fibrose hepática

O estágio da fibrose hepática foi avaliado por biópsia (até um ano antes de iniciar o tratamento) ou pelos índices sorológicos APRI (com base na razão aminotransferase aspartate [AST] sob o número de plaquetas) e FIB-4 (com base

na idade, aminotransferase aspartate [AST] e alanina aminotransferase [ALT] e contagem de plaquetas) (até três meses antes de iniciar o tratamento).⁽²⁴⁾

Para avaliar a extensão da fibrose hepática através da biópsia, utilizamos o sistema de pontuação METAVIR de F0 a F4 (F0 = sem fibrose; F1 = fibrose leve; F2 = fibrose significativa; F3 = fibrose grave; F4 = cirrose). (1) Para o escore APRI foram utilizados os pontos de corte inferior e superior de 0,5 e 1,50 foram adotados para diagnóstico de ausência e presença de fibrose significativa (METAVIR $\geq$ f2). Para o escore FIB4 foram utilizados os pontos de corte inferior e superior de 1,45 e 3,35 foram adotados para diagnóstico de ausência e presença de fibrose avançada (METAVIR $\geq$ f3).

Imunossupressores

Todos os pacientes faziam uso de terapia imunossupressora: tacrolimos e/ou micofenolato de sódio ou mofetil e/ou prednisona e/ou sirolimus.

Esquemas de tratamento da HCC

O esquema de tratamento da HCC, tempo, posologia e associação ou não de ribavirina foram adotados de acordo com o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções (PCDT) de 2015/ 2019,⁽¹³⁾⁽²⁵⁾ disponibilizado pelo MS, com base no genótipo, na prévia experimentação com DAA e no estágio de fibrose:

- genótipo 1: sofosbuvir associado a simeprevir ou daclatasvir, com ou sem ribavirina;
- genótipo 2: sofosbuvir com ribavirina;
- genótipo 3: sofosbuvir com daclatasvir, com ou sem ribavirina.

Todos os regimes de tratamento foram administrados por um período de 12 ou 24 semanas. A adição de ribavirina era opcional, especialmente utilizada quando houvesse preditores de pior resposta virológica, como cirrose, resposta nula prévia ou coinfecção com HIV. (21)(34)

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Em relação à análise descritiva dos dados demográficos e clínicos dos pacientes transplantados, foram avaliadas as frequências das variáveis qualitativas e os valores de média $\pm$ desvio padrão ou mediana (percentil 25%-percentil 75%) das variáveis contínuas. A distribuição normal das variáveis contínuas foi verificada aplicando-se o teste de normalidade de Shapiro-Wilk.

As diferenças entre as medidas de avaliação seriada dos parâmetros bioquímicos, hematológicos e estadiamento da fibrose hepática (antes do início do tratamento, na semana 4, ao fim do tratamento e após 12 ou 24 semanas da conclusão do tratamento) foram avaliadas através do teste t pareado, quando as análises de normalidade e homogeneidade de variância permitiram, ou pelo teste de postos sinalizados de Wilcoxon, para dados com distribuição não paramétrica. As diferenças foram consideradas estatisticamente significantes quando $p < 0,05$.

Para realização da análise estatística foi utilizado o *software SPSS Statistics*, versão 25 para Windows (IBM Corporation, Amonk, NY, EUA).

RESULTADOS

Foram avaliados 87 pacientes transplantados de fígado portadores de HCC entre dezembro de 2015 e março de 2019. Destes, 3 (3,4%) pacientes foram excluídos: um por coinfeção com HIV e dois por apresentarem rim transplantado.

As características clínico-demográficas dos 84 pacientes incluídos no estudo estão apresentadas na Tabela 1. Predominou o sexo masculino (63,1%) e média de idade de $63,4 \pm 7,4$ anos. O genótipo 1 foi predominante, sendo observado em 53 pacientes (63,1%). Diabetes mellitus e hipertensão arterial sistêmica foram as comorbidades mais frequentes, presentes em 48,9% e 52,3% dos pacientes, respectivamente.

A mediana de tempo decorrido do transplante de fígado até o início do tratamento atual foi de 4 anos (2,1-6,6 anos). Entre os 84 pacientes, 19 (22,7%) apresentaram fibrose leve (METAVIR $< F2$), 41 (48,8%) fibrose significativa ou moderada (METAVIR = $F2$) e 24 (28,5%) fibrose hepática avançada/cirrose (METAVIR $> F2$).

Carcinoma hepatocelular (CHC) foi diagnosticado em 5 (6,0%) pacientes antes do tratamento da HCC. Outros 2 (2,4%) pacientes foram diagnosticados com CHC após o fim do tratamento atual. Ambos tinham mais de 5 anos do transplante hepático, um deles apresentava fibrose leve (METAVIR < F2) e o outro apresentava fibrose hepática avançada/cirrose (METAVIR F3/F4).

O tacrolimus foi utilizado em 62 (74%) pacientes, de forma isolada ou em associação ao micofenolato.

A Tabela 2 descreve os regimes de tratamento e a resposta aos DAAs. Entre os 84 pacientes, 41(48,8%) já haviam sido tratados previamente com IFN ou PEG-INF associado à RBV, na seguinte proporção: 12 (14,3%) com INF + RBV e 20 (23,8%) com PEG + RBV. Dois (2,4%) pacientes foram tratados com inibidores de protease de primeira geração, um com boceprevir e o outro com telaprevir.

Tabela 1- Características demográficas e clínicas de 84 pacientes transplantados de fígado com hepatite C crônica, tratados com sofosbuvir associado ao daclatasvir ou simeprevir, Recife / PE, 2015-2019.

Característica	N = 84	
Sexo, n (%)		
Masculino	53	(63,1)
Feminino	31	(36,9)
Idade (anos) *	63,4	(± 7,4)
Raça, n (%)		
Branco	28	(33,3)
Pardo	52	(61,9)
Negro	4	(4,8)
Estado de origem		
Pernambuco	61	(72,6)
Paraíba	10	(11,9)
Alagoas	7	(8,3)
Outros	6	(7,1)
Comorbidades	77	(91,7)
Diabetes mellitus	36	(42,9)
Hipertensão arterial sistêmica	49	(58,3)

Hepatite B	4	(4,8)
Obesidade	3	(3,6)
Genótipo		
1	13	(15,4)
1 a	5	(6,0)
1 b	35	(41,7)
2	1	(1,2)
3	21	(25,0)
3 a	8	(9,5)
3 e 4	1	(1,2)
Imunossupressão		
Tacrolimus	21	(25,0)
Micofenolato de sódio	6	(7,1)
Tacrolimus + micofenolato de sódio	38	(45,2)
Tacrolimus + micofenolato de mofetila	3	(3,6)
Prednisona + micofenolato de sódio	5	(6,0)
Sirolimus + micofenolato de sódio	11	(13,1)

[†]Média ± desvio padrão;

Para o tratamento atual, a associação de SOF + DCV foi a mais frequente, utilizada em 58 (69%) pacientes, sendo a RBV administrada em 6 (7,1%) deles. A associação SOF + SMV foi utilizada em 19 (22,6%) pacientes, sendo a RBV administrada em 1 (1,2%) deles.

Entre os 84 pacientes, 82 (97,6%) apresentaram RVS. Em 38 e em 44 pacientes, a pesquisa do HCV-RNA foi realizada 12 e 24 semanas após o término do tratamento, respectivamente. Os dois pacientes que não apresentaram RVS não concluíram o tratamento com DAAs de acordo com o esquema proposto e foram considerados não-respondedores na avaliação intention-to-treat. Um deles fez uso da

associação SOF + SIM de forma equivocada, durante apenas 4 semanas, e outra paciente apresentou cefaleia na primeira semana de uso da associação SOF + SIM e, por conta própria, suspendeu o esquema terapêutico.

Alguns eventos adversos foram registrados em 18(25%) dos pacientes, que relataram apresentar pelo menos um evento associado ao uso dos esquemas com os DAAs. Os mais frequentes foram fadiga 6(8,3%), e dor de cabeça 5(6,9%) seguido de dor abdominal 4(5,6%), tontura 3(4,2%), náuseas 2(2,8%), diarreia 2(2,8%), depressão 1(1,4%), sudorese espontânea 1(1,4%) e lesões cutâneas 1(1,4%). Não foi observado nenhum problema relacionado a interação medicamentosa com nenhum dos esquemas utilizados. Previamente à prescrição do esquema antiviral, realizava-se avaliação quanto a possíveis interações, particularmente com os imunossupressores em uso. Selecionava-se o esquema compatível, evitando-se a interação. No caso, esquemas contendo SOF+DCV foram escolhidos com maior frequência por menores riscos de interações medicamentosas.

Tabela 2- Características do tratamento prévio e tratamento atual da HCC com sofosbuvir associado ao daclatasvir ou simeprevir, em 84 pacientes transplantados com hepatite C crônica, Recife / PE, 2015-2019.

Característica	(n=84)	
Tratamento anterior , n (%)		
Sim	4	(48,8)
	1	
Sem informação	1	(1,2)
Regime de tratamento anterior, n (%)		
Naive	4	(50,0)
	2	
IFN	3	(3,6)
IFN+RBV	1	(14,3)
	2	
PEG IFN	4	(4,8)
PEG IFN+RBV	2	(23,8)

	0	
Boceprevir	1	(1,2)
Telaprevir	1	(1,2)
Sem informação	1	(1,2)
Tratamento anterior, n (%)		
Recidivante	7	(8,3)
Não respondedor	2	(29,8)
	5	
Intolerante	9	(10,7)
Sem informação	1	(1,2)
Regime de tratamento atual, n (%)		
SOF+SMV	1	(22,6)
	9	
SOF+DCV	5	(69,0)
	8	
SOF+DCV+RBV	6	(7,1)
SOF+SMV+RBV	1	(1,2)
Tempo de tratamento, n (%)		
12 semanas	8	(95,2)
	0	
24 semanas	4	(4,8)

[†]Média ± desvio padrão; IFN: interferon; Peg-IFN: interferon peguilado; DCV: daclatasvir; SMV: simeprevir; SOF: sofosbuvir; RBV: ribavirina; RVS: resposta virológica sustentada.

A avaliação seriada dos parâmetros bioquímicos, hematológicos e o estadiamento da fibrose hepática estão descritos na Tabela 3 e Figura 1. Os níveis de hemoglobina e contagem de plaquetas nos transplantados permaneceram estáveis após 12 e 24 semanas do término do tratamento. Adicionalmente, houve redução significativa da concentração sérica de ALT, AST, GGT, ALP a partir da semana 4, que se manteve até 24 semanas após o tratamento. O valor médio do APRI e FIB-4 apresentou redução significativa a partir da semana 4 de tratamento, e ficou mantida até o final.

Tabela 3- Características bioquímicas, hematológicas e estadiamento da fibrose hepática em 84 pacientes transplantados de fígado com hepatite C crônica, tratados com sofosbuvir associado ao daclatasvir ou simeprevir, Recife / PE, 2015-2019.

Característica	Antes do tratamento	Semana 4 do tratamento	Final do tratamento	Semana 12 pós-tratamento	Semana 24 pós-tratamento	p1	p2	p3	p4
Hemoglobina (g/dL)[†]	13, ±1,9 2	12, ±2,3 9	12, ±2,1 9	12, ±1,2 9	14, ±1,9 1	0,149 a	0,552 a	0,332 a	0,001 a
Plaquetas (x10³/mL)[†]	165 ±68	174 ±73	17 ±63 1	178 ±51	17 ±74 2	0,300 a	0,220 a	0,133 a	0,683 a
AST (UI/L)[‡]	53, (34,0- 0 85,0)	27, (20,0- 5 34,5)	23, (17,0- 0 31,0)	22, (17,0- 0 31,2)	24, (20,0- 0 34,0)	<0,00 1 ^b	<0,00 1 ^b	<0,00 1 ^b	<0,00 1 ^b
ALT (UI/L)[‡]	70, (43,0- 0 120,0)	26, (17,0- 5 46,2)	20, (15,0- 0 34,5)	22, (16,0- 5 39,0)	24, (16,0- 0 46,0)	<0,00 1 ^b	<0,00 1 ^b	<0,00 1 ^b	<0,00 1 ^b
GGT (UI/L)[‡]	137 (82,2- ,5 309,8)	85, (38,8- 5 136,8)	62, (27,1- 0 117,0)	75, (34,5- 6 108,5)	63, (28,5- 0 122,5)	<0,00 1 ^b	<0,00 1 ^b	0,002 b	<0,00 1 ^b
ALP (UI/L)[‡]	119 (96,0- ,0 209,0)	99, (69,0- 0 138,0)	92, (69,0- 0 138,0)	95, (61,8- 5 173,8)	10 (75,0- 7 151,0)	<0,00 1 ^b	<0,00 1 ^b	<0,00 1 ^b	<0,00 1 ^b
Bilirrubina Total (mg/dL)[‡]	0,7 (0,50- 0 1,00)	0,7 (0,50- 0 0,88)	0,6 (0,40- 0 0,83)	0,5 (0,39- 7 0,90)	0,6 (0,46- 1 0,87)	0,040 b	0,005 b	0,079 b	0,022 b
Albumina (mg/dL)[‡]	4,3 (4,00- 0 4,59)	4,2 (3,92- 0 4,40)	4,1 (4,00- 0 4,40)	4,2 (4,00- 0 4,49)	4,2 (4,00- 5 4,60)	0,055 b	0,866 b	0,810 b	0,088 b
Creatinina	1,0 ±0,36	1,0 ±0,32	1,0 ±0,38	1,2 ±0,46	1,0 ±0,31	0,574	0,326	0,016	0,072

[†]Média ± desvio padrão; [‡]Mediana (P₂₅-P₇₅); p-valor da análise utilizando o estrato “antes do tratamento” como referência e comparando com “semana 4” (p1), “fim” (p2), “Semana 12 pós-tratamento” (p3) e “Semana 24 pós-tratamento” (p4). ^aTeste t pareado; ^bteste de postos sinalizados de Wilcoxon. ALT: alanina aminotransferase; AST: aspartato aminotransferase; GGT: gama glutamil transferase

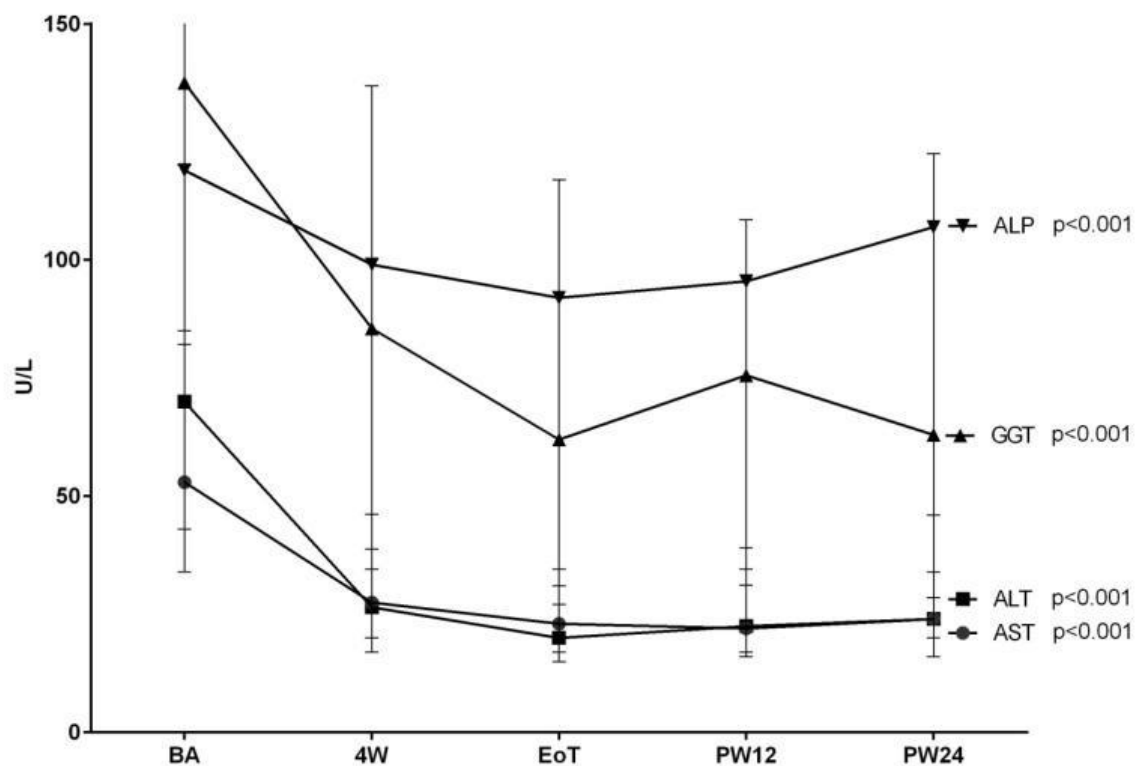


FIGURA 01- Comparação da atividade das enzimas hepáticas: ALP (UI/L); GGT (UI/L); ALT (UI/L); AST (UI/L), em diferentes momentos, antes do tratamento/linha de base (BA); semana 4 do tratamento (4W); final do tratamento (EoT); semana 12 pós-tratamento (PW12); e semana 24 pós-tratamento (PW24) de 84 pacientes transplantados de fígado com hepatite C crônica, tratados com sofosbuvir associado ao daclatasvir ou simeprevir. Todas as comparações são feitas Desvio Padrão/ Mediana (P₂₅-P₇₅) com os níveis da linha de base.

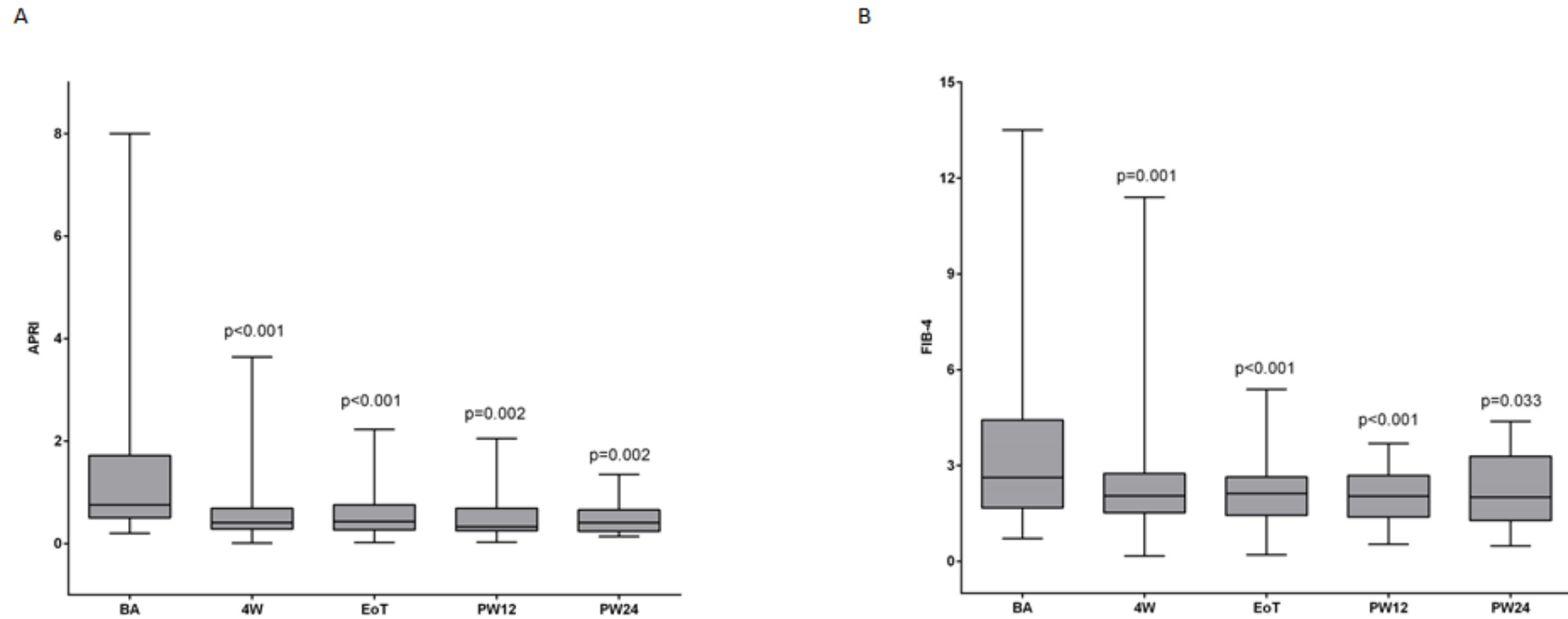


FIGURA 2– Valores de APRI e FIB-4 em diferentes momentos, antes do tratamento/linha de base (BA); semana 4 do tratamento (4W); final do tratamento (EoT); semana 12 pós-tratamento (PW12); e semana 24 pós-tratamento (PW24) de 84 pacientes transplantados de fígado com hepatite C crônica, tratados com sofosbuvir associado ao daclatasvir ou simeprevir. (A) APRI. (B) FIB-4. Todas as comparações são feitas Desvio Padrão/ Mediana (P_{25} - P_{75}) com os níveis da linha de base.

DISCUSSÃO

Este estudo da vida real descreve o tratamento com DAA da infecção recorrente pelo HCV após o transplante hepático, em dois hospitais universitários públicos no Nordeste do Brasil. Trata-se de uma população específica, para quem a evolução da HCC é mais agressiva e cujo tratamento com interferon, mesmo na formulação peguillado, apresenta baixíssima chance de RVS, em virtude das interações medicamentosas, além de propiciar diversos efeitos colaterais e dificuldades no ajuste das doses dos imunossuppressores.

Este estudo incluiu 84 pacientes transplantados de fígado com HCC, que foram tratados com DAAs de segunda geração e apresentaram RVS de 97,6%. Estes dados são similares aos observados na coorte francesa, que avaliou o tratamento com SOF + DCV em 137 pacientes transplantados com recorrência de HCV e mostrou taxa de RVS de 96% independente do uso ou não da RBV.⁽²⁶⁾ Da mesma forma, no estudo ALLY-1, que envolveu 53 pacientes transplantados de fígado, a RVS12 foi alcançada por 95% dos pacientes com genótipo 1 e 91% daqueles com genótipo 3.⁽²⁷⁾ O mesmo ocorreu no estudo de Gutierrez et al. que avaliou o tratamento por 12 semanas da associação do SOF + SMV e encontrou RVS de 93,4% em 57 transplantados de fígado com HCC.⁽²⁸⁾

Três estudos nacionais, mostraram taxas de RVS entre 90 e 98%, após o tratamento da HCC com DAAs de pacientes com HCC transplantados de fígado.⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾⁽²¹⁾ As características dos nossos pacientes transplantados com HCC, predominantemente com genótipo 1 e fibrose leve podem justificar as elevadas taxas de RVS, muito semelhantes as encontradas por Araújo *et al.* e Zanaga *et al.*, já que nestes estudos os pacientes também apresentavam as mesmas características. Com efeito, no estudo realizado em São Paulo com 53 pacientes, 23 % apresentavam fibrose leve (F0-F1) e 43% com fibrose moderada (F2), a taxa de RVS foi 98%, com apenas uma falha virológica, em paciente cirrótica.⁽²¹⁾

Já no estudo de Mucenic et al., utilizou DAAs em 39 transplantados com HCC da região sul do Brasil com predominância do genótipo 3, revelou taxa de RVS de 90%, um pouco inferior à descrita em nosso estudo e nos outros dois estudos brasileiros.⁽¹⁹⁾ Possivelmente, a menor taxa de reposta deveu-se ao predomínio do genótipo 3 (2/3 dos casos) e de mais pacientes com fibrose avançada (F4). Estes

dois fatores, o genótipo 3 e a fibrose avançada/cirrose são preditivos de RVS inferiores tanto nos pacientes transplantados como nos não transplantados.⁽²⁹⁾⁽³⁰⁾⁽³¹⁾

De fato, quando se avaliam grandes casuísticas observam-se diferenças nas taxas de RVS de acordo com os diferentes genótipos. No estudo brasileiro, incluindo a maior casuística da América Latina de pacientes com HCC usando DAAs de segunda geração, coordenado pela Sociedade Brasileira de Hepatologia (SBH), que incluiu 20 estados brasileiros e 3.939 pacientes, observou-se taxas de RVS superiores a 95% nos pacientes com genótipo 1 e de cerca de 90% naqueles com genótipo 3, variando com o tipo de esquema terapêutico, sexo e presença de cirrose descompensada.⁽³²⁾ Nossos resultados em pacientes transplantados com HCC são semelhantes a estes do estudo multicêntrico da SBH, possivelmente em decorrência da distribuição muito parecida dos genótipos do HCV, com predomínio do genótipo 1.⁽⁵⁾⁽³²⁾

Adicionalmente, estudo multicêntrico sobre os DAAs com 123 transplantados com HCC, em três centros de transplante nos EUA, demonstrou que a taxa de RVS foi menor ($p=0,05$) naqueles com fibrose avançada METAVIR F3-F4 (81%), em comparação com aqueles com fibrose leve e moderada F0-F2 (93%).⁽²⁹⁾ Resultados semelhantes foram observados em uma revisão sistemática, envolvendo 885 pacientes transplantados todos do genótipo 1⁽⁵⁾⁽³²⁾, com taxas de RVS superiores ($p < 0,01$) em pacientes com METAVIR F0-F2 (RVS = 97%, IC 95% 0,93-0,99⁽²⁹⁾), quando comparadas a dos pacientes F3-F4 (RVS = 85%, IC 95%: 0,79-0,90)⁽³¹⁾

Cabe destacar que alguns estudos, inclusive uma meta-análise, vêm demonstrando redução significativa da fibrose hepática após o tratamento da HCC com DAAs, tanto através da avaliação da fibrose por elastografia como pelos escores APRI e FIB-4, em pacientes não-transplantados.⁽³³⁾⁽³⁴⁾ Estes dados indicam redução da progressão da HCC para cirrose e consequentemente do número de casos para transplante hepático pelo HCV.

Contudo, ainda são poucos os estudos avaliando a regressão da fibrose após o tratamento da HCC com DAAs, em pacientes transplantados de fígado.⁽³⁵⁾ Com efeito, Omar *et al* verificaram melhora progressiva do grau de fibrose hepática, através da elastografia e escores séricos, 12 e 18 meses após o tratamento da HCC com DAAs em 52 pacientes transplantados de fígado.⁽³⁵⁾

A regressão dos escores APRI e FIB-4 após o tratamento da HCC com DAAs, tanto em pacientes transplantados de fígado como em não-transplantados, pode ocorrer quer por redução dos níveis séricos das enzimas hepáticas quer pelo aumento do número de plaquetas.⁽³³⁾⁽³⁶⁾

Classicamente, os pacientes com HCC apresentam níveis séricos elevados das enzimas hepáticas, refletindo agressão viral ao hepatócito, e normalização durante e após o tratamento, como consequência da eliminação do HCV.⁽³³⁾⁽³⁶⁾

De fato, em nosso estudo foi observado este comportamento habitual dos níveis séricos das enzimas hepáticas, a partir da semana 4 após início da terapia com DAAs, refletindo redução da atividade necro-inflamatória no parênquima hepático com a eliminação do HCV. Também observamos redução progressiva dos escores APRI e FIB-4 após 12 e 24 semanas do término da terapia com DAAs. A queda destes escores deve ter ocorrido em função da redução dos níveis séricos das aminotransferases já que não se verificou aumento significativo do número de plaquetas nem durante nem após a terapia com DAAs. A pouca elevação do número de plaquetas em nosso estudo se deve possivelmente a ausência de plaquetopenia em nossos pacientes antes do início da terapia com DAAs, como também se verificou no estudo de Omar *et al.*⁽³⁵⁾

Diferentemente, no estudo de Hsu *et al.*, em pacientes com HCC, não-transplantados, tratados com DAAs, observou-se aumento do número de plaquetas apenas nos pacientes que apresentavam plaquetopenia antes do tratamento.⁽³⁶⁾

Efeitos colaterais dos DAAs, na maioria leves, ocorreram em um quarto dos nossos pacientes, sendo a fadiga (8,3%) e a cefaleia (6,9%) os mais frequentes. Em apenas um paciente o tratamento foi suspenso por efeito adverso (cefaleia), coincidindo com o achado de outros autores de que observaram que os DAAs apresentam poucos efeitos colaterais, sendo necessária a interrupção da terapia em menos de 2% dos pacientes.⁽¹⁷⁾⁽³⁷⁾ As principais reações adversas notificadas são dor de cabeça, insônia, fadiga, náusea e diarreia.⁽³⁸⁾⁽³⁹⁾ No estudo de vida-real de Bernuth *et al.*, envolvendo 37 pacientes com HCC, transplantados de fígado, tratados com DAAs, poucos pacientes apresentaram anemia, que foi relacionada ao uso de RBV. Em apenas um paciente foi necessária a suspensão

da terapia em virtude da piora dos níveis séricos de creatinina, que já estavam alterados antes da terapia com SOF + ledipasvir.⁽⁴⁰⁾

Vale notificar que a cefaleia foi a causa da única interrupção de tratamento por efeito colateral em nosso estudo. O segundo caso de falha, decorreu de falta de adesão por falta de compreensão da forma de administração do esquema terapêutico. Estes dois casos devem ser considerados não-respondedores na avaliação intention-to-treat da efetividade dos DAAs, embora na verdade estes pacientes não tenham completado a terapia proposta inicialmente. Estas questões podem ocorrer em estudos de vida-real e constituem limitações da assistência ao tratamento, que podem ocorrer na prática médica. Certamente, estas falhas na adesão ao tratamento poderiam ter sido contornadas em um estudo prospectivo e controlado, destacando-se a importância dos esclarecimentos e acompanhamento dos pacientes antes e durante a terapia com DAAs. Saliente-se ainda que alguns efeitos colaterais dos DAAs pouco relevantes podem ter ocorrido em nossos pacientes, mas que não foram devidamente referidos e nem questionados pelos médicos na prática rotineira.

Outras limitações do nosso estudo, que devem ser consideradas, foram o pequeno número de pacientes envolvidos e o curto tempo de seguimento após o final do tratamento antiviral.

Em conclusão, o tratamento com DAAs de segunda geração alcançou elevada taxa de RVS, em um estudo de vida-real, e foi bem tolerado por pacientes transplantados com HCC pelo HCV na região Nordeste do Brasil. Futuros estudos com maiores casuísticas serão necessários para confirmar estes achados.

REFERÊNCIAS

1. Medeiros T, Salviato C de M, do Rosário NF, Saraiva G do N, Esberard EBC, Almeida JR, et al. Adverse effects of direct acting antiviral-based regimens in chronic hepatitis C patients: a Brazilian experience. *Int J Clin Pharm*. 2017;39(6):1304–11.
2. WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines on Hepatitis B and C Testing. Geneva: World Health Organization. 2017.
3. Kwo PY, Mantry PS, Coakley E, Te HS, Vargas HE, Brown R, et al. An interferon-free antiviral regimen for HCV after liver transplantation. *N Engl J*

Med. 2014;371(25):2375–82.

4. Focaccia R, Baraldo DC, Ferraz ML, Martinelli AL, Carrilho FJ, Gonçalves FL, et al. Demographic and anthropometrical analysis and genotype distribution of chronic hepatitis C patients treated in public and private reference centers in Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2004;8(5):348–55.
5. Alvarado-Mora M V., Moura IM, Botelho-Lima LS, Azevedo RS, Lopes E, Carrilho FJ, et al. Distribution and molecular characterization of hepatitis C virus (HCV) genotypes in patients with chronic infection from Pernambuco State, Brazil. *Virus Res.* 2012;169(1):8–12.
6. Brasil. Hepatites virais 2017. *Protoc Clínico e Diretrizes Ter para Hepat C e Coinfecções Ministério da Saúde Secr Vigilância em Saúde Dep DST, Aids e Hepatites Virais.* 2017;48(24):65.
7. Pawlotsky JM, Aghemo A, Back D, Dusheiko G, Forns X, Puoti M, et al. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2015. *J Hepatol.* 2015;63(1):199–236.
8. Berenguer M. Systematic review of the treatment of established recurrent hepatitis C with pegylated interferon in combination with ribavirin. *J Hepatol.* 2008;49(2):274–87.
9. Butt AA, Kanwal F. Boceprevir and Telaprevir in the Management of Hepatitis C Virus – Infected Patients. 2012;54(1):96–104.
10. Pawlotsky JM, Negro F, Aghemo A, Berenguer M, Dalgard O, Dusheiko G, et al. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol.* 2018;69(2):461–511.
11. Asselah T, Boyer N, Saadoun D, Martinot-Peignoux M, Marcellin P. Direct-acting antivirals for the treatment of hepatitis C virus infection: Optimizing current IFN-free treatment and future perspectives. *Liver Int.* 2016;36(November 2015):47–57.
12. Lawitz E, Sulkowski MS, Ghalib R, Rodriguez-Torres M, Younossi ZM, Corregidor A, et al. Simeprevir plus sofosbuvir, with or without ribavirin, to treat chronic infection with hepatitis C virus genotype 1 in non-responders to pegylated interferon and ribavirin and treatment-naïve patients: The COSMOS randomised study. *Lancet.* 2014;384(9956):1756–65.
13. BRASIL. Hepatites virais 2015. *Protoc Clínico e Diretrizes Ter para Hepat C e Coinfecções Ministério da Saúde Secr Vigilância em Saúde Dep DST, Aids e Hepatites Virais.* 2015;101.
14. Pawlotsky JM. New hepatitis C therapies: The toolbox, strategies, and challenges. *Gastroenterology.* 2014;146(5):1176–92.
15. Ferreira VL, Borba HHL, Wiens A, Pedroso MLA, Radunz VF de C, Ivantes CAP, et al. Effectiveness and tolerability of direct-acting antivirals for chronic

- hepatitis C patients in a Southern state of Brazil. *Brazilian J Infect Dis.* 2018;22(3):186–92.
16. Holzmann I, Tovo C V., Minmé R, Leal MP, Kliemann MP, Ubirajara C, et al. Effectiveness of chronic hepatitis C treatment with direct-acting antivirals in the Public Health System in Brazil. *Brazilian J Infect Dis.* 2018;22(4):317–22.
 17. Duarte V, Delvaux N, Brandão-mello CE, Portela E, Sérgio P, Sousa F De, et al. Prevalence of baseline NS3 resistance-associated substitutions (RASs) on treatment with protease inhibitors in patients infected with HCV genotype 1. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2019;1–7.
 18. Sette-jr H, Cheinquer H, Wolff FH, Araujo A De, Coelho-borges S, Soares SRP, et al. Treatment of Chronic HCV Infection with the New Direct Acting Antivirals (DAA): First Report of a Real World Experience in Southern Brazil. *Ann Hepatol.* 2017;16(5):727–33.
 19. Mucenic M, Bandeira de Mello Brandao A, Marroni CA, Medeiros Fleck A, Zanotelli ML, Kiss G, et al. Daclatasvir and Sofosbuvir With or Without Ribavirin in Liver Transplant Recipients: A Single-Center Real-World Study. *Transplant Proc.* 2018;50(3):769–71.
 20. Araujo A, Valenzuela-granados V, Lopes AB, Michalczuk MT, Mantovani A, Alvares-da-silva MR. *Annals of Hepatology* Sofosbuvir-based antiviral therapy in patients with recurrent HCV infection after liver transplant: A real-life experience. *Ann Hepatol.* 2019;18(3):450–5.
 21. Zanaga LP, Santos AG, Ataíde EC, Boin IFSF, Stucchi RSB. Recurrent hepatitis C treatment with direct acting antivirals – a real life study at a brazilian liver transplant center. *Brazilian J Med Biol Res.* 2019;52(8):6–11.
 22. Michelin BDA, Muller Z, Stelzl E, Marth E, Kessler HH. Evaluation of the Abbott RealTi m e HCV assay for quantitative detection of hepatitis C virus RNA. 2007;38:96–100.
 23. Kesli R. An Overview of the Laboratory Assay Systems and Reactives Used in the Diagnosis of Hepatitis C Virus (HCV) Infections. 1989;340–9.
 24. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, et al. Development of a Simple Noninvasive Index to Predict Significant Fibrosis in Patients With HIV/HCV Coinfection. *Hpatology.* 2006;1317–25.
 25. O Grupo francês de Estudo Cooperativo METAVIR, Bedossa P: Variações intraobservadoras e interobservadoras na interpretação da biópsia hepática em pacientes com hepatite C crônica. *Hepatologia.* 1994, 20:15-20. 10.1002/hep.1840200104.
 26. Wai C, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, et al. A Simple Noninvasive Index Can Predict Both Significant Fibrosis and Cirrhosis in Patients With Chronic Hepatitis C. *Hpatology.* 2003;

27. BRASIL. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. 2017; Minist Da Saude. 2019;1:138.
28. Coilly A, Fougerou-Leurent C, de Ledinghen V, Houssel-Debry P, Duvoux C, Di Martino V, et al. Multicentre experience using daclatasvir and sofosbuvir to treat hepatitis C recurrence – The ANRS CUPILT study. *J Hepatol.* 2016;65(4):711–8.
29. Poordad F, Schiff ER, Vierling JM, Landis C, Fontana RJ, Yang R, et al. Daclatasvir With Sofosbuvir and Ribavirin for Hepatitis C Virus Infection With Advanced Cirrhosis or Post-Liver Transplantation Recurrence. 2015;63(5):1493–505.
30. Gutierrez JA, Carrion AF, Avalos D, Brien CO, Bhamidimarri KR, Peyton A. Sofosbuvir and Simeprevir for Treatment of Hepatitis C Virus Infection in Liver Transplant Recipients. *Liver Transpl.* 2015;1–31.
31. Pungpapong S, Aqel B, Leise M, Werner KT, Murphy JL, Henry TM, et al. Multicenter Experience Using Simeprevir and Sofosbuvir With or Without Ribavirin to Treat Hepatitis C Genotype 1 After Liver Transplant. 2015;1880–6.
32. Liu J, Ma B, Cao W, Li M, Bramer WM, Peppelenbosch MP, et al. Direct-acting antiviral agents for liver transplant recipients with recurrent genotype 1 hepatitis C virus infection: Systematic review and meta-analysis. *Transpl Infect Dis.* 2019;21(2):1–12.
33. Lobato CM de O, Codes L, Silva GF, Souza AFM, Coelho HSM, Pedroso MLA, et al. Direct antiviral therapy for treatment of hepatitis C: A real-world study from Brazil. *Ann Hepatol.* 2019;18(6):849–54.
34. Singh S, Facciorusso A, Loomba R, Falck-ytter YT, Jolla L, Jolla L, et al. Magnitude and Kinetics of Decrease in Liver Stiffness After Anti- viral Therapy in Patients With Chronic Hepatitis C: A Systematic Review and Meta-analysis Siddharth. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2018;16(1):27–38.
35. Omar H, Said M, Eletreby R, Mehrez M, Bassam M, Abdellatif Z, et al. Longitudinal assessment of hepatic fibrosis in responders to direct-acting antivirals for recurrent hepatitis C after liver transplantation using noninvasive methods. *Clin Transplant.* 2018;32(8):0–2.
36. Hsu WF, Lai HC, Su WP, Lin CH, Chuang PH, Chen SH, et al. Rapid decline of noninvasive fibrosis index values in patients with hepatitis C receiving treatment with direct-acting antiviral agents. *BMC Gastroenterol.* 2019;19(1):1–9.
37. Experience T, Elfeki MA, Mrad RA, Esfeh JM, Zein NN, Eghtesad B, et al. Sofosbuvir / Ledipasvir Without Ribavirin Achieved High Sustained Virologic

Response for Hepatitis C Recurrence After Liver Transplantation. 2017;101(5).

38. Nogueras López F, López Garrido A, Ortega Suazo EJ, Vadillo Calles F, Valverde López F, Espinosa Aguilar MD. Therapy With Direct-Acting Antiviral Agents for Hepatitis C in Liver Transplant Recipients. *Transplant Proc.* 2018;50(2):631–3.
39. Welzel TM, Yang M, Sajeev G, Chen YJ, Pinsky B, Bao Y, et al. Assessing Patient Preferences for Treatment Decisions for New Direct Acting Antiviral (DAA) Therapies for Chronic Hepatitis C Virus Infections. *Adv Ther.* 2019;36(9):2475–86.
40. Bernuth S, Grimm D, Vollmar J, Darstein F, Mittler J, Heise M, et al. Efficacy and safety of direct-acting antiviral therapy in previous hard-to-treat patients with recurrent hepatitis C virus infection after liver transplantation: A real-world cohort. *Drug Des Devel Ther.* 2017;11:2131–8.

6.2 ARTIGO 2- EVOLUÇÃO DOS MARCADORES LABORATORIAIS E ÍNDICES APRI E FIB-4 APÓS CURA VIROLÓGICA DA HEPATITE C COM OS NOVOS DAAS

RESUMO

OBJETIVOS: Avaliar a evolução dos marcadores laboratoriais aspartato (AST) e alanina (ALT) aminotransferases, contagem de plaquetas e índices APRI e FIB-4 após tratamento de pacientes com hepatite C crônica com DAAs de segunda geração, que apresentaram resposta virológica sustentada (RVS). **MÉTODO:** Estudo observacional retrospectivo com 137 pacientes adultos portadores de hepatite C crônica tratados com DAAs. Dados demográficos, clínicos e laboratoriais (AST, ALT, PLT, anti-HCV e níveis de HCV-RNA), foram coletados de prontuários médicos. Os índices APRI e FIB-4 foram calculados antes do tratamento e após 12 e 24 semanas do final do tratamento dos pacientes com RVS. **RESULTADOS:** O tratamento mostrou-se efetivo, atingindo taxa de RVS de 97,8%. Dentre os 134 pacientes com RVS, houve redução da ALT e AST ($p < 0,001$) após 12 e 24 semanas do final do tratamento, que a contagem de plaquetas não mostrou diferença significativa antes e após a RVS 12 e 24. Oitenta e três e 81 pacientes foram incluídos para avaliação do APRI e FIB-4, respectivamente. Após 24 semanas de tratamento, a proporção de pacientes com APRI $> 1,5$ reduziu de 31,3% para 3,6%, $p < 0,001$, enquanto a proporção de pacientes com APRI $< 0,5$ aumentou de 22,9% para 63,9%, $p < 0,001$. Em relação ao FIB-4, houve redução da proporção de pacientes com FIB $> 3,25$ de 38,3% para 21%, $p=0,019$. **CONCLUSÃO:** Houve redução precoce dos índices APRI e FIB-4, que ocorreu provavelmente devido à queda das transaminases, AST/ALT, após RVS, em pacientes tratados com antivirais de segunda geração. Seguimento mais longo será necessário para avaliação de regressão de fibrose hepática.

Palavras-chave: Hepatite C crônica; Antiviral de Ação Direta; APRI; FIB-4.

INTRODUÇÃO

A hepatite C crônica (HCC) é uma doença sistêmica que causa fibrose hepática, podendo levar ao desenvolvimento de cirrose e, por consequência, hipertensão portal, insuficiência hepática, carcinoma hepatocelular (CHC), necessidade de transplante hepático e óbito. (1) No Brasil, estima-se que 1,5-1,7 milhões de indivíduos estejam infectados com o vírus da hepatite C (HCV), com taxa de detecção de 10,8/ 100mil habitantes em 2020 (2).

Os antivirais de ação direta (DAAs) representam um importante avanço do tratamento para a HCC. Os DAAs de segunda geração já se mostram globalmente seguros e bem tolerados. Estes são administrados como um regime de tratamento totalmente oral e de curta duração e produzem taxas de resposta virológica sustentada (RVS) que excede 95%. (3,4) A interrupção da replicação viral após a RVS parece estar associada à diminuição do risco de progressão da doença hepática, em decorrência da redução na inflamação do fígado, que pode resultar na regressão da fibrose hepática. (5,6)

No Brasil, o Ministério da Saúde iniciou o fornecimento dos DAAs para o tratamento da hepatite C em 2015, através do Sistema Único de Saúde (SUS), com esquemas terapêuticos baseados na associação de sofosbuvir com outros antivirais, de acordo com o genótipo do HCV e o estágio de fibrose hepática (PCDT 2015) (7)

A avaliação do estágio de fibrose hepática é primordial para a escolha do esquema de tratamento, definição do seguimento e prognóstico pós-tratamento. (2) Vários métodos indiretos podem ser usados, de forma confiável, para o estadiamento da fibrose hepática, através de técnicas de imagem, como a elastografia hepática por ultrassom (8) ou através dos biomarcadores sorológicos, como o índice de fibrose baseado em 4 fatores (FIB-4) e o índice de relação aspartato aminotransferase (AST) sobre plaquetas (APRI). (9)

Poucos estudos avaliaram especificamente os índices sorológicos de fibrose hepática, após uso dos DAAs (10,11,12,13,14,15). Com o aumento do número de pacientes curados da HCC, o seguimento desses índices pode ter impacto relevante na avaliação da evolução do dano hepático, após a terapia antiviral. (15, 16)

Nesse contexto, este estudo se propõe a avaliar a evolução dos marcadores aspartato (AST) e alanina (ALT) aminotransferases, contagem de plaquetas e

índices APRI e FIB-4 após tratamento de pacientes com hepatite C crônica com DAAs de segunda geração, que apresentaram RVS, por meio de um estudo observacional realizado em um centro de referência do Nordeste do Brasil.

PACIENTES E MÉTODO

Desenho do Estudo

Trata-se de estudo observacional retrospectivo e prospectivo que incluiu indivíduos com diagnóstico de HCC, tratados com antivirais de ação direta (DAAs) de segunda geração.

Pacientes

Foram incluídos pacientes adultos (>18 anos) com infecção crônica por HCV que realizaram terapia com os DAAs de segunda geração, atendidos no ambulatório de hepatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, de dezembro de 2015 a outubro de 2020. Os pacientes foram acompanhados de seis meses a um ano após confirmação da RVS.

A infecção crônica por HCV foi definida pela presença de anticorpo anti-HCV há mais de 6 meses e do HCV-RNA detectável no soro. Foram incluídos pacientes virgens de tratamento e experimentados, que falharam anteriormente ao tratamento com interferon peguilhado (PEG-IFN) com ou sem ribavirina (RBV) e/ou com os DAAs de primeira geração boceprevir ou telaprevir, com ou sem RBV. Foram excluídos gestantes e pacientes com ausência de informação sobre a carga viral pré-tratamento ou após o tratamento. Foram excluídos da análise dos índices APRI e FIB-4 aqueles sem informação da dosagem de aminotransferases e contagem de plaquetas pré e pós-tratamento.

Os dados clínicos e laboratoriais foram reunidos em formulário que incluía dados demográficos e características clínico-laboratoriais, coletados durante a consulta médica ou através de análise do prontuário.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CCS-UFPE), Recife, Brasil, sob o protocolo de número

2.383.189/2018. Todos os pacientes que concordaram em participar do estudo assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Esquemas de tratamento da HCC

A escolha do esquema de tratamento com DAAs foi baseada em critérios médicos, de acordo com as diretrizes propostas pelos Protocolos Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções (PCDT) de 2015, 2017 ou 2019 (7,17,18) disponibilizados pelo Ministério da Saúde, com base no genótipo, na prévia experimentação com DAA e no estágio de fibrose. Todos os regimes de tratamento foram administrados por um período de 12 ou 24 semanas.

Em 2015, foi aprovado o uso de sofosbuvir 400mg, associado ao daclatasvir 60mg ou simeprevir 150mg (7). Em 2017 e 2019 houve atualização do PCDT, que incluiu novos subgrupos de pacientes, e novas medicações, como ombitasvir / veruprevir 75mg / ritonavir 50 mg / dasabuvir 250mg (OMB/ PTV/ RTV/ DSV); sofosbuvir 400mg / velpatasvir 100mg (SOF / VEL) e ledipasvir 90mg / sofosbuvir 400mg (LDV / SOF) (17)(18). Ribavirina foi associada aos DAAs, à critério do médico assistente, nos casos de cirrose, e ajustada pelo peso (1000 mg / dia para pacientes <75 kg e 1250mg / dia para pacientes ≥ 75 kg).

Avaliações Clínicas e Laboratoriais, determinação de APRI e FIB-4

As avaliações clínicas e as coletas dos exames laboratoriais foram realizadas nos períodos: até 3 meses antes do início do tratamento, ao final do tratamento, e após 12 e/ou 24 semanas do final do tratamento.

A análise laboratorial incluiu contagem de plaquetas e dosagem de aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT). As amostras de sangue foram coletadas em jejum, por punção venosa periférica. Os exames laboratoriais foram realizados por método automatizado.

A avaliação do estágio de fibrose hepática foi realizada através dos escores séricos APRI e FIB-4, calculados conforme descrito por Wai et al.(19) e Sterling et al. (20). O estadiamento da fibrose hepática foi determinado pelos pontos de corte superior e inferior dos escores, com estratificação em três grupos. Para o APRI, os pacientes foram classificados em: fibrose ausente ou leve (APRI <0,5), zona cinza (APRI entre 0,5 e 1,5) e fibrose avançada (APRI > 1,5). Para o FIB-4, os

pacientes foram classificados em: fibrose ausente a leve (FIB-4 <1,45), zona cinza (FIB-4 entre 1,45 e 3,25) e fibrose avançada (FIB-4 >3,25).

O HCV-RNA foi realizado antes, no final do tratamento (FDT) e na semana 12 e/ou 24 após o final do tratamento (RVS12/24). O HCV-RNA, foi realizado através da plataforma Abbott HCV em tempo real, Abbott Diagnostics®, pelo método PCR em tempo real (qPCR), cobrindo uma faixa de quantificação de 12 UI/ml a 100 milhões UI/ml, utilizando o equipamento modelo *m2000* Real Time System (Abbott®). A falha virológica foi classificada como não resposta (HCV-RNA detectável ao final do tratamento), ou recidiva (HCV-RNA não quantificável no final do tratamento, mas quantificável 12 ou 24 semanas após final do tratamento).

Análise Estatística

Os dados clínicos e laboratoriais foram analisados utilizando-se os *softwares* SPSS Statistics, versão 25 para *Windows* (IBM Corporation, Amonk, NY, EUA) e *GraphPadPrism 6* (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA).

As variáveis qualitativas foram descritas em frequências absolutas e relativas, e intervalo de confiança de 95% (IC_{95%}), enquanto os dados quantitativos foram analisados por média e desvio padrão, quando apresentaram uma distribuição normal, verificada pelo teste de Shapiro-Wilk, ou por mediana e percentis 25 e 75 (P₂₅–P₇₅), quando a distribuição observada foi não paramétrica.

Para comparação das proporções entre dois grupos, foi utilizado o teste de Qui-quadrado ou Exato de Fisher, a depender do número da amostra, por estrato analisado. As distribuições normais entre dois grupos independentes foram comparadas através do teste t de Student, enquanto que para variáveis não paramétricas foi utilizado o teste de Mann-Whitney.

As comparações entre as características bioquímicas e de estágio de fibrose, antes do tratamento e 12 e 24 semanas após o tratamento, foram avaliadas através do teste de postos sinalizados de Wilcoxon para dados com distribuição não paramétrica. As diferenças foram consideradas estatisticamente significantes quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Pacientes

As características clínico-demográficas dos pacientes incluídos no estudo são apresentadas na Tabela 1. Foram avaliados 243 pacientes portadores de HCC entre dezembro de 2015 e outubro de 2020. Destes, 106 pacientes foram excluídos devido à ausência de informações sobre o genótipo, carga viral, aminotransferases ou contagem de plaquetas pré e pós-tratamento ou por apresentarem coinfeção com o vírus da imunodeficiência humana (HIV).

Foram então incluídos 137 pacientes, com idade média de 62 (± 12) anos, 70 (51,1%) dos pacientes eram do sexo feminino. Os genótipos mais frequentes foram o genótipo 1 (79,6%) e o genótipo 3 (18,2%). As principais comorbidades foram hipertensão arterial (65%) e diabetes mellitus (26,3%). Seis pacientes apresentavam marcadores de infecção prévia pelo vírus da hepatite B (Anti-HBc e Anti-HBs) positivos. Nenhum paciente apresentou histórico de carcinoma hepatocelular.

Tabela 1- Características demográficas e clínicas de 137 pacientes com infecção crônica pelo vírus da hepatite C tratados com os antivirais de ação direta de segunda geração, Recife / PE, 2015-2020.

Características	n = 137	
Sexo, n (%)		
Masculino	67	(48,9)
Feminino	70	(51,1)
Idade (anos), média ± desvio padrão[†]	62	(±12)
Raça, n (%)		
Branco	79	(57,7)
Pardo	42	(30,7)
Negro	11	(8,0)
Sem informação	5	(3,6)
Comorbidades, n (%)		
Hipertensão arterial	90	(65,7)
Diabetes mellitus	36	(26,3)
Hepatite B prévia	6	(4,4)
Infecção pelo HIV	2	(1,5)
Genótipo, n (%)		
1	109	(79,6)
2	2	(1,5)
2 e 3	1	(0,7)
3	25	(18,2)

[†]Média ± desvio padrão; *classificação através da biopsia hepática

Tratamento com os DAAs de segunda geração

Entre os 137 pacientes, 48 (35,0%) já haviam sido previamente tratados para hepatite C, sendo que 12 (8,8%) foram tratados com IFN± RBV, 34 (34,8%) receberam PEG-INF± RBV, e apenas 2 (1,5%) foram tratados com inibidores de protease de primeira geração (boceprevir). Dentre os experimentados, 32 (67%) eram não respondedores, 9 (19%) eram recidivantes e 7 (14%) intolerantes. (Tabela 2)

Em relação ao tratamento atual com DAAs de segunda geração, os esquemas mais utilizados foram o SOF+DCV ± RBV em 52(38%), o SOF+SMV± RBV em 51 (37,2%) e o OMB+PTV+RTV+DSV± RBV em 22 pacientes (16,1%). Dos 137 pacientes, 134 (97,8%) alcançaram a RVS após o final do tratamento e apenas 3 apresentaram falha virológica.

Tabela 2- Características do tratamento prévio e atual de 137 pacientes com infecção crônica pelo vírus da hepatite C, tratados com os antivirais de ação direta de segunda geração, Recife / PE, 2015-2020.

Características		n = 137
Tratamento anterior (experimentado), n (%)		
Sim	48	(35,0)
Não	89	(64,9)
Regime de tratamento anterior, n (%)		
IFN	2	(1,5)
IFN+RBV	10	(7,3)
PegIFN	1	(0,7)
PegIFN+RBV	33	(24,1)
PegINF + RBV + Boceprevir	2	(1,5)
HCV RNA pré-tratamento atual (log₁₀ UI/mL), média ± desvio padrão		
	5,92	(±0,86)
Regime de tratamento atual, n (%)		
SOF+SMV±RBV	51	(37,2)
SOF+DCV ± RBV	52	(38,0)
SOF+LDP± RBV	9	(6,6)
SOF+VLP ± RBV	3	(2,1)
OMB+PTV+RTV+DSV± RBV	22	(16,1)
Tempo de tratamento, n (%)		
12 semanas	125	(91,2)
24 semanas	12	(8,8)
Taxa de RVS. N (%)		
	13	
	4	(97,8)

DCV: daclatasvir; DSV: dasabuvir; IFN: interferon; LDP: ledipasvir; PegIFN: interferonpeguilado; OMB: ombitasvir; PTV: paritaprevir; RBV: ribavirina; RTV: ritonavir; RVS: resposta virológica sustentada; SMV: simeprevir; SOF: sofosbuvir; VLP: velpatasvir;

Características bioquímicas e dos escores APRI e FIB-4

As características bioquímicas e dos escores foram avaliadas nos pacientes que alcançaram RVS. Houve redução significativa das aminotransferases ALT e AST ($p < 0,001$) após 12 e 24 semanas do fim do tratamento (FDT). A contagem de plaquetas não mostrou diferença significativa antes e após 12 e 24 semanas FDT. A mediana do APRI mostrou redução significativa após o tratamento quando comparada com a mediana antes do tratamento (pré-tratamento 0,88 (0,49-1,58) x

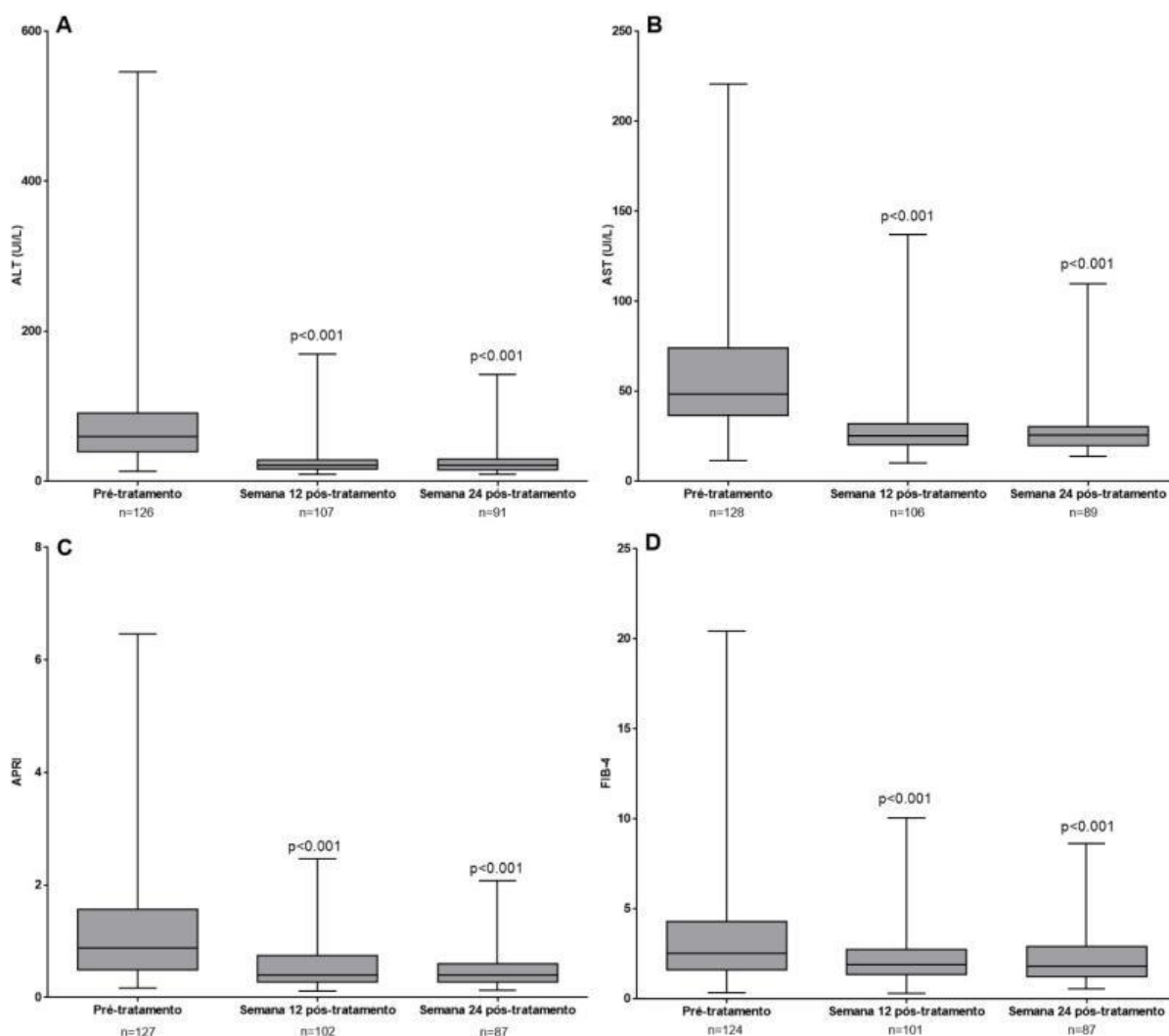
12 semanas FDT 0,39 (0,28-0,75); $p < 0,001$ e 24 semanas FDT 0,39 (0,28-0,61); $p < 0,001$). A mesma redução significativa ocorreu com a mediana do FIB-4 (pré-tratamento 2,51 (1,59-4,32) x 12 semanas FDT 1,91 (1,35-2,73); $p < 0,001$; e 24 semanas FDT 1,88 (1,21-3,01); $p < 0,001$, conforme observado na Tabela 3 e no Gráfico 1.

Tabela 3. Características bioquímicas em pacientes com infecção pelo vírus da hepatite C, antes e após 12 e 24 semanas do tratamento com os antivirais de ação direta de segunda geração, Recife / PE, 2015-2020.

Características	Antes do tratamento			Semana 12 pós-tratamento			Semana 24 pós-tratamento			p1*	p2*
	N	Med	P ₂₅ -P ₇₅	n	Med	P ₂₅ P ₇₅	n	Med	P ₂₅ -P ₇₅		
AST (UI/L)	128	48,4	(36,3-74,5)	106	25,2	(20-32,5)	89	25,8	(19,9-30)	<0,001	<0,001
ALT (UI/L)	126	59,5	(39,1-93)	107	21,1	(16-29)	91	21	(15,9-29)	<0,001	<0,001
Plaquetas (x10 ³ /mL)	131	168	(135-212)	107	173	(152-209)	99	182	(134-213)	<0,106	0,265
APRI	127	0,88	(0,49-1,58)	102	0,39	(0,28-0,75)	87	0,39	(0,28-0,61)	<0,001	<0,001
FIB-4	124	2,51	(1,59-4,32)	101	1,91	(1,35-2,73)	87	1,88	(1,21-3,01)	<0,001	<0,001

Valores em Mediana (P₂₅-P₇₅); *Teste de postos sinalizados de Wilcoxon. p-valor da análise utilizando o estrato “antes do tratamento” como referência e comparando com “Semana 12 pós-tratamento” (p1) e “Semana 24 pós-tratamento” (p2). ALT: alanina aminotransferase; APRI: índice de relação aspartato aminotransferase sobre plaquetas; AST: aspartato aminotransferase; FIB-4: índice fibrose-4;

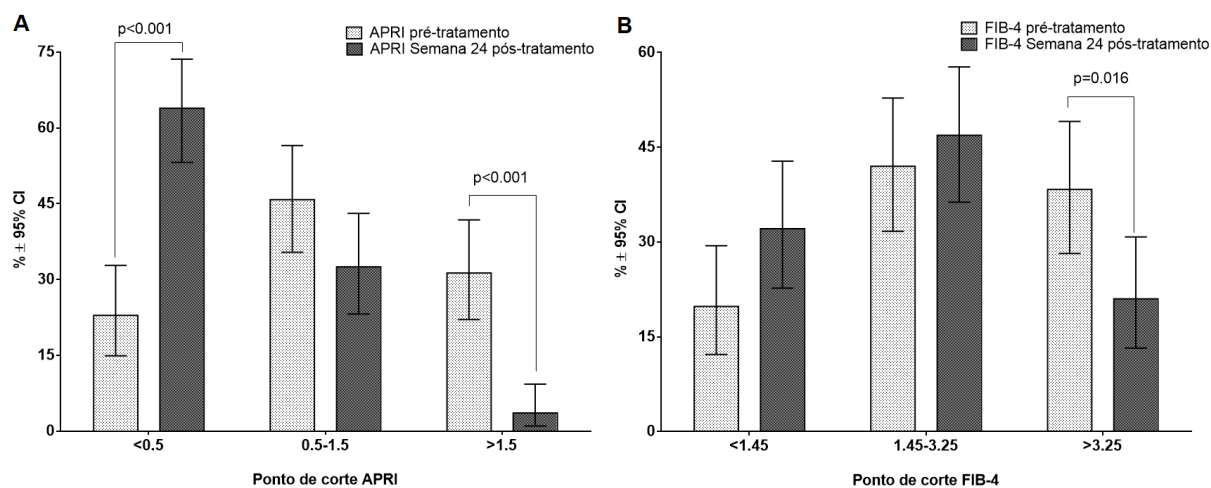
Gráfico 1- Aminotransferases e índices APRI e FIB-4 em pacientes com infecção pelo vírus da hepatite C, antes e após 12 e 24 do tratamento com os antivirais de ação direta de segunda geração, Recife / PE, 2015-2020.



Valores em mediana (P₂₅–P₇₅). p: Teste de postos sinalizados de Wilcoxon

Em 83 dos 134 pacientes (61,9%) que apresentaram RVS, o APRI foi calculado antes e após 24 semanas de tratamento, enquanto que em 81 (60,4%), o FIB-4 foi calculado nos mesmos intervalos. A proporção de pacientes com APRI >1,5 reduziu de 31,3% para 3,6%, p < 0,001 após 24 semanas do tratamento, enquanto a proporção de pacientes com APRI < 0,5 aumentou de 22,9% para 63,9%, p < 0,001. Em relação ao FIB-4, houve uma redução da proporção de pacientes com FIB > 3,25 de 38,3% para 21%, p=0,019(Gráfico 2).

Gráfico 2- Comparação dos índices APRI (N=83) e FIB4 (N=81), antes e após 24 semanas do tratamento com os antivirais de ação direta de segunda geração, em pacientes com infecção crônica pelo vírus da hepatite C tratados, Recife / PE, 2015-2020.



Valores em frequência e intervalo de confiança de 95%. p: Teste de Qui-Quadrado para comparação entre duas proporções.

DISCUSSÃO

Neste estudo, 97,8% dos pacientes com HCC tratados com os DAAs de segunda geração alcançaram RVS, sendo que apenas três pacientes apresentaram falha virológica. Houve também redução significativa dos valores medianos das aminotransferases ALT e AST na 12ª semana após o final do tratamento, que se manteve na 24ª semana. De forma similar, após 24 semanas do final do tratamento ocorreu redução da proporção de pacientes com valores de APRI > 1,5, assim como da proporção de pacientes com FIB-4 > 3,25. Embora esses índices tenham sido criados para estimação do estágio de fibrose, esse curto tempo de seguimento não nos permite falar em regressão de fibrose, sendo a redução do índice provavelmente secundária à melhora do componente inflamatório.

O advento da terapia antiviral de ação direta determinou um importante impacto positivo no prognóstico de pacientes com HCC. (5,6) Esses esquemas vêm mostrando altas taxas de RVS, em geral acima de 95% (3,4), similares ao alcançado

no presente estudo. A RVS é alcançada mesmo nos pacientes anteriormente considerados difíceis de tratar, como aqueles com cirrose e os não respondedores à terapia com INF. (21, 22, 23,24)

Vários fatores afetam o prognóstico da doença hepática crônica, dos quais os principais são a inflamação e a fibrose hepática. A inflamação desencadeia o processo de fibrose, que resulta em alterações estruturais e perda da qualidade funcional do fígado. (25) A avaliação da fibrose hepática em pacientes com HCC é fundamental para orientar decisões terapêuticas, determinar o prognóstico da doença hepática e acompanhar a progressão ou regressão da doença. (26)

A biópsia ainda é considerada o “padrão ouro” na avaliação da fibrose hepática, porém é técnica invasiva, com riscos de complicações, como dor e sangramento, que limitam seu uso (27) e, na prática, deixou de ser a primeira escolha para avaliação da fibrose antes e após o tratamento da HCC. Os métodos não invasivos, que incluem os biomarcadores e as técnicas de imagem, como a elastografia hepática por ultrassom, vêm sendo utilizados na HCC para substituir a biópsia hepática. (8,9) Os índices sorológicos APRI e FIB-4 são amplamente utilizados na prática clínica, por serem não patenteados e de fácil acesso. O cálculo do APRI inclui AST e plaquetas, enquanto o do FIB-4 inclui idade, ALT, AST e plaquetas. (16,17).

A maioria dos estudos de avaliação da fibrose hepática após o tratamento de HCC com DAAs, utilizou a elastografia e os índices APRI e FIB-4. (10,11,12,13). Lee e colaboradores (13), mostraram uma diminuição significativa do APRI e FIB-4, e da elastografia bidimensional por ondas de cisalhamento (2 D-SWE) em 68 pacientes após 12 semanas do tratamento com os DAAs e demonstrou que a mediana do APRI diminuiu de 0,701 para 0,328 ($P < 0,0001$) e a mediana do FIB-4 diminuiu de 2,355 para 1,860 ($P < 0,0001$) (17). *Bachofner et al.*, (10), obtiveram resultados semelhantes, avaliando a fibrose através do APRI e FIB-4 e da elastografia transitória (TE) em 392 pacientes que alcançaram RVS após terapias com DAA. Houve redução de 32,4% na TE ($p < 0,001$) e os valores medianos de FIB-4 e APRI reduziram de 2,54 (IQR 1,65-4,43) e 1,10 (IQR 0,65-2,43) para 1,80 (IQR 1,23-2,84, $p < 0,001$) e 0,43 (IQR 0,3-0,79, $p < 0,001$), respectivamente.

Lu et al., (14) mostraram que a RVS parece estar relacionada a melhora ou diminuição significativa dos escores FIB-4 e APRI, avaliados ao longo de 10 anos de um grande estudo observacional em 4.731 pacientes com HCV nos Estados Unidos. Os valores de FIB4 foram mais baixos entre os pacientes que alcançaram RVS; esses valores continuaram diminuindo e permaneceram estáveis ao longo dos 10 anos quando comparados aos valores de pacientes não tratados ou que falharam ao tratamento ($p < 0,001$). Os resultados foram semelhantes em uma análise de sensibilidade que substituiu o FIB4 pelo APRI como marcador de fibrose.

Wong et al., (15) , avaliaram as mudanças na AST, ALT, PLT e FIB-4 do pré-tratamento e anualmente até 4 anos após a terapia para HCV, entre 2.691 pacientes na Califórnia. Todos os marcadores de gravidade da doença demonstraram melhorias pós-tratamento. Estes resultados coincidem com os achados de Kang et al., (28), em estudo de vida real realizado na China, no qual foram avaliados TE, APRI e FIB-4 de 102 pacientes, antes do tratamento, ao final, e nas semanas 12, 24 e 48 após o tratamento. Cinquenta e um pacientes tinham fibrose leve a moderada (F1/ F2), e 51, fibrose avançada (F3/F4). Os dados mostraram uma diminuição significativa do APRI e FIB-4 [0,64 (0,39-1,21) vs. 0,35 (0,26-0,52), $p < 0,001$; 2,53 (1,30–3,91) vs. 1,87 (0,89–2,5), $p < 0,001$] e TE, após 12 semanas do tratamento e foi maior nos pacientes com fibrose avançada F3/F4.

É importante ressaltar que a redução dos escores APRI e FIB-4, após o tratamento de HCC com DAAs, pode estar relacionada à diminuição dos níveis de enzimas hepáticas séricas e/ou um aumento do número de plaquetas. (10,11) Com o tratamento da HCC e eliminação do HCV, ocorre regressão da atividade inflamatória e normalização das enzimas hepáticas. (11,29,30). De fato, no nosso estudo, o principal achado foi a redução dos níveis séricos de aminotransferases observadas após a RVS, mantidas em valores normais após 12 ou 24 semanas. De forma similar, observou-se redução dos índices de APRI e FIB-4, que mantiveram valores medianos similares após 24 semanas do final da terapia com DAAs. Essa redução deveu-se, principalmente, à redução dos níveis de aminotransferases, visto que, o número de plaquetas não aumentou significativamente após a terapia antiviral, o que pode ter ocorrido em virtude do período de acompanhamento relativamente curto pós-tratamento.

Quanto ao tempo pós-tratamento, nossos dados sugerem que as principais alterações de transaminases e dos índices APRI e FIB-4 ocorreram já na 12ª semana após tratamento e foram similares na semana 24. O valor mediano do APRI era 0,88 pré-tratamento, sendo reduzido para 0,39 após 12 semanas ($p < 0,001$) e mantido em 0,39 na semana 24 pós-tratamento ($p < 0,001$). Em relação ao FIB-4, o valor mediano inicial era 2,51, sendo reduzido para 1,91 na semana 12 ($p < 0,001$) e 1,88 na semana 24 pós-tratamento ($p < 0,001$).

Nossos resultados mostram que a melhora significativa dos escores FIB-4 e APRI ocorreu mesmo naqueles pacientes em estratos mais avançados de fibrose pelo APRI e FIB-4, com redução de fibrose significativa de 31,3 para 3,6% e de fibrose avançada de 38,3 para 21 % dos pacientes, após 24 semanas do tratamento. Da mesma forma, Elsharkawy et al., (26), mostraram uma redução significativa nos níveis de ALT e AST, além de um aumento na contagem de plaquetas, que por sua vez resultaram em melhora significativa de FIB-4 e APRI 12 semanas pós tratamento de 337 pacientes com HCC tratados com regime de tratamento baseado em Sofosbuvir. Cerca de 81,1% dos pacientes cirróticos mostraram melhora na medida de rigidez hepática na RVS12.

Em conjunto, nossos dados demonstram redução dos escores APRI e FIB-4 e indica redução da atividade necro-inflamatória após a RVS após 24 semanas do final do tratamento com DAAs de segunda geração. Enquanto o tempo de acompanhamento foi suficiente para demonstrar resultados significativos, maior número de pacientes e um maior tempo de seguimento serão necessários para definir se a melhora dos índices poderá indicar regressão de fibrose hepática.

REFERÊNCIAS

- 1- Bruden DJT, McMahon BJ, Townshend-Bulson L, Gounder P, Gove J, Homan C, et al. Risk of end-stage liver disease, hepatocellular carcinoma, and liver-related death by fibrosis stage in the hepatitis C Alaska Cohort. *Hepatology*. 2017; 66: 37-45.
- 2- Ministério da Saúde (Brasil). Secretaria de Vigilância em Saúde. Hepatites virais 2020. *BolEpidemiol*. 2020; N. Especial: 1-80.

- 3- Asselah T, Boyer N, Saadoun D, Martinot-Peignoux M, Marcellin P. Direct-acting antivirals for the treatment of hepatitis C virus infection: Optimizing current IFN-free treatment and future perspectives. *Liver Int.* 2016; (36): 47–57.
- 4- Sulkowski MS, Gardiner DF, Rodriguez-Torres M, Reddy KR, Hassanein T, Jacobson I, et al. Daclatasvir plus sofosbuvir for previously treated or untreated chronic HCV infection. *N Engl J Med.* 2014; 370(3):211–21.
- 5- Knop V, Hoppe D, Welzel T, Vermehren J, Herrmann E, Vermehren A, et al. Regression of fibrosis and portal hypertension in HCV-associated cirrhosis and sustained virologic response after interferon-free antiviral therapy. *J Viral Hepat.* 2016; 23(12): 994-1002.
- 6- Laursen TL, Siggaard CB, Kazankov K, Sandahl TD, Møller HJ, Tarp B, et al. Time-dependent improvement of liver inflammation, fibrosis and metabolic liver function after successful direct-acting antiviral therapy of chronic hepatitis C. *J Viral Hepat.* 2020; 27(1): 28–35.
- 7- Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais (BR). Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para hepatite C e coinfeções. Brasília, DF; 2015.
- 8- Barr RG, Wilson SR, Rubens D, Garcia-Tsao G, Ferraioli G. Update to the Society of Radiologists in Ultrasound Liver Elastography Consensus Statement. *Radiology.* 2020; 296 (2): 263–74.
- 9-Lin ZH, Xin YN, Dong QJ, Wang Q, Jiang XJ, Zhan SH, et al. Performance of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the staging of hepatitis C-related fibrosis: an updated meta-analysis. *Hepatology.* 2011; (53): 726–736.
- 10-Bachofner JA, Valli PV, Kröger A, Bergamin I, Künzler P, Baserga A, et al. JC. Direct antiviral agent treatment of chronic hepatitis C results in rapid regression of transient elastography and fibrosis markers fibrosis-4 score and aspartate aminotransferase-platelet ratio index. *Liver Int.* 2017; 37(3): 369-376.7
- 11- Hsu WF, Lai HC, Su WP, Lin CH, Chuang PH, Chen SH, et al. Rapid decline of noninvasive fibrosis index values in patients with hepatitis C receiving treatment with direct-acting antiviral agents. *BMC Gastroenterol.* 2019; 19 (1):1–9.
- 12-Huang R, Rao H, Yang M, Gao Y, Wang J, Jin Q, et al. Noninvasive Measurements Predict Liver Fibrosis Well in Hepatitis C Virus Patients After Direct-Acting Antiviral Therapy. *Dig Dis Sci.* 2020; 65(5): 1491-1500.

- 13-Lee SH, Shin HP, Lee JI. Real-world single-center experience with direct-acting antivirals for improvement of the liver fibrosis after chronic hepatitis C treatment. *Antivir Chem Chemother*. 2020; (28): 204.
- 14- Lu M, Li J, Zhang T, et al. Serum biomarkers indicate long-term reduction in liver fibrosis in patients with sustained virologic response to treatment for HCV infection. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2016; 14(7): 1044-1055.
- 15-Wong RJ, Jain MK, Therapondos G, et al. Sustained Improvements in Markers of Liver Disease Severity After Hepatitis C Treatment. *J Clin Exp Hepatol*. 2020;10(2):114-123.
- 16-Younossi Z.M., Stepanova M., Gordon S. Patient-reported outcomes following treatment of chronic hepatitis C virus infection with sofosbuvir and velpatasvir, with or without voxilaprevir. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018;16:567–574.
- 17-Ministério da Saúde (Brasil). Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções. 2017; 48(24): 65.
- 18-Ministério da Saúde (Brasil). Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. 2019; (1): 138.
- 19-Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003; (38): 518–526.
- 20-Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa Mc, Montaner J, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*. 2006; (43): 1317–1325.
- 21- Reddy KR, Lim JK, Kuo A, Di Bisceglie AM, Galati JS, Morelli G, et al. HCV-TARGET Study Group. All-oral direct-acting antiviral therapy in HCV-advanced liver disease is effective in real-world practice: observations through HCV-TARGET database. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017; (45): 115-126.
- 22- Silva IPL, Batista AD, Lopes EP, Filgueira NA, Carvalho BT, Santos JC, et al. A real-life study on the impact of direct-acting antivirals in the treatment of chronic hepatitis C in liver transplant recipients at two university centers in Northeastern Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2021; (29): 63-6.

- 23-Schwabl P, Mandorfer M, Steiner S, Scheiner B, Chromy D, Herac M, et al. Interferonfree regimens improve portal hypertension and histological necroinflammation in HIV/HCV patients with advanced liver disease. *Aliment PharmacolTher.* 2017; (45): 139-149
- 24- Backus LI, Belperio PS, Shahoumian TA, Mole LA. Directly acting antiviral sustained virological response: impact on mortality in patients without advanced liver disease. *Hepatologia.* 2018; (68) :827–838.
- 25-Marcellin P, Asselah T, Boyer N. Fibrosis and disease progression in hepatitis C. *Hepatology.* 2002; (36): 47-56.
- 26-Elsharkawy A, Alem SA, Fouad R, El Raziky M, EL Akel W, Abdo M, et al. Changes in liver stiffness measurements and fibrosis scores following sofosbuvir based treatment regimens without interferon. *J Gastroenterol Hepatol.* 2017; (32): 1624-1630.
- 27-Cholongitas E, Senzolo M, Standish R, Marelli L, Quaglia A, Patch D, et al. A systematic review of the quality of liver biopsy specimens. *Am J Clin Pathol.* 2006; (125): 710-721.
- 28-Kang Q, Xu J , Luo H, Tan N, Chen H, Cheng R, et al. Direct antiviral agent treatment leads to rapid and significant fibrosis regression after HCV eradication. *Journal of Viral Hepatitis.* 2021; (28): 1284-92.
- 29-Tada T., Kumada T., Toyoda H., Mizuno K., Sone Y, Kataoka S, et al. Improvement of liver stiffness in patients with hepatitis C virus infection who received direct-acting antiviral therapy and achieved a sustained virological response. *J GastroenterolHepatol.* 2017; (32): 1982-1988.
- 30-Omar H, Said M, Eletreby R, Mehrez M, Bassam M, Abdellatif Z, et al. Longitudinal assessment of hepatic fibrosis in responders to direct-acting antivirals for recurrent hepatitis C after liver transplantation using noninvasive methods. *Clin Transplant.* 2018; 32(8): 0–2.

7 CONCLUSÕES

De acordo com os dados apresentados nos estudos, podemos concluir que tratamento com antivirais de ação direta de segunda geração propiciou elevada taxa de RVS e normalização dos níveis séricos das enzimas hepáticas em pacientes transplantados de fígado e não transplantados, e foi bem tolerado com poucos e quase nenhum eventos adversos relevantes;

As correlações positivas referentes à queda das transaminases AST/ALT, após clareamento viral, redução dos escores APRI e FIB-4 indicando uma possível redução da atividade necro-inflamatória após a resposta virológica sustentada, contribuído para amenizar os danos hepáticos.

8 RECOMENDAÇÕES

Para estudos futuros sugerimos uma casuística maior para confirmar achados do estudo, também se faz um maior tempo de segmento para definir se a melhora dos marcadores séricos de lesão hepática e os escores APRI, FIB4 para definir se a melhora dos índices poderá indicar regressão de fibrose hepática.

Sugerimos realização de estudos utilizando outros métodos não invasivos de avaliação da fibrose hepática, como por exemplo, elastografia transitoria e/ou ARFI para definir se a melhora dos escores retratará regressão de fibrose hepática.

REFERÊNCIAS

ADLAND, E. et al. Hepatitis virus (HCV) diagnosis and access to treatment in a UK cohort. **BMC Infectious Diseases**, v.18, p.461, 2018.

ALTER, M. J. **The epidemiology of acute and chronic hepatitis C. Clinical Liver Diseases**, v.1, n.3, p. 559-68, 1997.

ALTER, M. J. Prevention of spread of Hepatitis C. *Hepatology*, **Philadelphia**, v. 36, n. 05, p. 93-98, 2002.

ALVARADO-MORA M, V. et al. Distribution and molecular characterization of hepatitis C virus (HCV) genotypes in patients with chronic infection from Pernambuco State, Brazil. **Virus Res**, v.169, n.1, p. 8–12, 2012.

AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES & INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICA. Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C. p. 1–51, 2016.

AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASE. Hcv guidance: recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C. 2017

AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES & INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICA. HCV Guidance: Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C. p. 1–263. Virginia, 2018.

ANDRES J. et al. Eight-week outcomes of Ledipasvir/sofosbuvir in noncirrhotic treatment-naïve patients with hepatitis C: analysis of pharmacy-based data. **J Manag Care Spec Pharm**, v.24, n.1, p.23-28, 2018.

ASSELAH T. et al. Direct-acting antivirals for the treatment of hepatitis C virus infection: Optimizing current IFN-free treatment and future perspectives. **Liver Int.**, v. 36, p. 47–57, 2016.

AASLD/IDSA HCV GUIDANCE PANEL. Hepatitis C guidance: AASLD-IDSA recommendations for testing, managing, and treating adults infected with hepatitis C virus. *Hepatology*, v. 62, p. 932-54, 2015.

ARAUJO A. et al. Sofosbuvir-based antiviral therapy in patients with recurrent HCV infection after liver transplant : a real-life experience. **Ann Hepatol**, v.18, p. 450-5, 2019.

ASHFAQ, U. A. et al. An overview of HCV molecular biology, replication and immune responses. **Virology Journal**, v. 8, n. 1, p. 161, 2011.

ATTIA, D. et al. The adverse effects of interferon-free regimens in 149 816 chronic hepatitis C treated Egyptian patients. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 47, n. 9, p. 1296-1305, 2018.

BACHOFNER J. A. et al. Direct antiviral agent treatment of chronic hepatitis C results in rapid regression of transient elastography and fibrosis markers fibrosis-4 score and aspartate aminotransferase-platelet ratio index. **Liver Int.**, v.37, v.3 p- 369-376.7, 2017.

BACKUS L. I. et al. A sustained virologic response reduces risk of all-cause mortality in patients with hepatitis C. **Clin Gastroenterol Hepatol**, v.9, n.6, p.509-516, 2011.

BARR et al. Update to the Society of Radiologists in Ultrasound Liver Elastography Consensus Statement. **Radiology**, p.296:263–274, 2020.

BEDOSSA, P.; POYNARD, T. METAVIR COOPERATIVE STUDY GROUP. **An Algorithm for the Grading of Activity in Chronic Hepatitis C. Hepatology**, v. 24, n. 2, p. 289–293, 1996.

BELLI, L. S. et al. Delisting of liver transplant candidates with chronic hepatitis C after viral eradication: A European study. **Journal of Hepatology**, v. 65, n. 3, p. 524–531, 2016.

BERENGUER M. Systematic review of the treatment of established recurrent hepatitis C with pegylated interferon in combination with ribavirin. **J Hepatol**, v.49, p. 274- 87, 2008.

BERENGUER M.; SCHUPPAN D. Progression of liver fibrosis in post-transplant hepatitis C: Mechanisms, assessment and treatment. **J Hepatol**, v.58, p.1028-41, 2013.

BERENGUER M. Management of HCV in the liver transplant setting. **Clin Res Hepatol Gastroenterol**, v.39, p. 115-9, 2015.

BORGES NETO, F.C. et al. Effectiveness of treatment with direct acting antivirals in patients with hepatitis C treated at a reference center in the State of Pará, Brazil, from 2017 to 2019. **Rev Pan-Amaz Saude**, v. 11, 2020.

BERNUTH S. et al. Efficacy and safety of direct-acting antiviral therapy in previous hard-to-treat patients with recurrent hepatitis C virus infection after liver transplantation: A real-world cohort. **Drug Des Devel Ther**, v.11, p. 2131–8, 2017.

BOTA, S. et al. Intra- and Interoperator Reproducibility of Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) Elastography-Preliminary Results. **Ultrasound in Medicine and Biology**, v. 38, n. 7, p. 1103–1108, 2012.

BURRA P. et al. Antiviral therapy for hepatitis C virus recurrence following liver transplantation: Long-term results from a single center experience. **Transpl Proc**, v. 38, p.1127-30, 2006.

BURROUGHS, A. K.; CHOLONGITAS, E. Non-invasive tests for liver fibrosis: Encouraging or discouraging results? **Journal of Hepatology**, v. 46, n. 5, p. 751–755, 2007.

BURTON J.R. et al. A US Multicenter Study of Hepatitis C Treatment in Liver Transplant Recipients with Triple Protease Inhibitor Therapy. **J Hepatol.** , v.61, n.3, p. 508-514, 2014.

BUTT A.A.; KANWAL F. Boceprevir and Telaprevir in the Management of Hepatitis C Virus. **Infected Patients**, v.54, n.1, p.96–104, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde (MS). Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para a Hepatite Viral C e Coinfecções**. Brasília: MS, p.42, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde (MS). Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. Suplemento 2. **Protocolo clínico e diretrizes 56 terapêuticas para hepatite C e coinfecções (genótipo 1 do HCV e fibrose avançada)**. Brasília, MS; 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde (MS). Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para a Hepatite C e Coinfecções**. Brasília: MS, p.101, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Prevenção da Transmissão Vertical do HIV, Sífilis e Hepatites Virais**. Brasília: MS, 2018.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. DEPARTAMENTO DE DST AIDS E HEPATITES VIRAIS. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para hepatite C e coinfecções**. Brasília: MS, 2019.

BOTROS, M.; SIKARIS, K. A. The De Ritis ratio: the test of time. **The Clinical biochemist Reviews**, v. 34, n. 3, p. 117–130, 2013.

BROWN RS J. R. et al. Hepatitis C Therapeutic Registry Research Network Study Group. Interferon-free therapy for genotype 1 hepatitis C in liver transplant recipients: Real-world experience from the hepatitis C therapeutic registry and research network. **Liver Transpl.**, v.22, n.1, p. 24-33, 2016.

BRUDEN D. J. T. et al. Risk of end-stage liver disease, hepatocellular carcinoma, and liver-related death by fibrosis stage in the hepatitis C Alaska **Cohort. Hepatology**, v.66, p.37-45, 2017.

BRUNO G. et al. Rapid improvement in liver fibrosis in HCV infected patients with or without HIV infection and DAAinduced SVR: a ‘turning-off’ effect of liver inflammation? *J Viral Hepat*, v. 24, p. 174–175, 2017.

CAMPIOTTO S. et al .Geographic distribution of hepatitis C virus genotypes in Brazil. **Brazilian Journal Medical Biological Research**, São Paulo, v. 38, n. 1, p. 41-49, 2005.

COILLY A. et al. Multicentre experience using daclatasvir and sofosbuvir to treat hepatitis C recurrence: The CO23 ANRS CULPIT. **J Hepatol**. v.65, p. 711-8, 2016.

CHAN, D. P., et al. Sexually acquired hepatitis C virus infection: a review. **InternationalJournal of Infectious Diseases**, v. 49, p. 47-58, 2016.

CHEINQUER H. et al. New direct action antivirals containing regimes to treat patients with hepatitis C chronic infection: first results from national real-world registry of the Brazilian Hepatology Society. **J Hepatol**, v.66, n.1, p. 508, 2017.

CHEVALIEZ, S. Virological tools to diagnose and monitor hepatitis C virus infection. **Clinical Microbiology and Infection**, v.17, n.2, p.116–121, 2011.

CHOI, M. et al. Serial change of liver stiffness measured by acoustic radiation force impulse imaging in chronic liver disease: correlation with biochemical markers. **Journal of Medical Ultrasonics**, v. 41, n. 3, p. 311–317, 13 jul. 2014.

CHOO Q. L. et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. **Science**, v.244, n.4902, p.359-62, 1989.

CHOLONGITAS E. et al. A systematic review of the quality of liver biopsy specimens. **Am J Clin Pathol**, v.125, p. 710-721, 2006.

CUNNINGHAM H. E. et al. Successful treatment of hepatitis C virus infection with direct-acting antivirals during hematopoietic cell transplantation. **Transpl Infect Dis**, v. 21, n. 3, p.13091, 2019.

D'AMBROSIO R. et al. A morphometric and immunohistochemical study to assess the benefit of a sustained virological response in hepatitis C virus patients with cirrhosis. **Hepatology**, v.56, p.532–543, 2012.

D'AMBROSIO R.; DEDASPERI E., COLOMBO M., Direct Action Antivirals: The End Game for Hepatitis C?. **Curr Opin Virol**, v.24, p.31-37, 2017.

DUARTE V. et al. Prevalence of baseline NS3 resistance-associated substitutions (RASs) on treatment with protease inhibitors in patients infected with HCV genotype 1. **Clin Res Hepatol Gastroenterol**. p.1–7, 2019.

DUVOUX C. et al. Recurrent hepatitis C virus infection post liver transplantation: impact of choice of calcineurin inhibitor. **Transplant Int**, v.26, p. 358-72, 2013.

ELAHI E. et al. Determination of hepatitis C virus genotype by Pyrosequencing. **J Virol Methods**, v.109, n.2, p.171-6, 2003.

EL-SHABRAWWI, M.H.; KAMAL, N.M. Burden of pediatric hepatitis C. **World Journal of Gastroenterology**, v. 19, n. 44, p. 7880-8, 2013.

ELSHARKAWY A. et al. Changes in liver stiffness measurements and fibrosis scores following sofosbuvir based treatment regimens without interferon. **J Gastroenterol Hepatol**, n.32, p. 1624-1630, 2017.

EUROPEAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF THE LIVER. EASL recommendations on treatment of hepatitis C 2015. **J Hepatol**, v.63, p.199-236, 2015.

EUROPEAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF THE LIVER. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2016. **Journal of Hepatology**, v. 66, n. 1, p. 153–194, 2017.

EXPERIENCE T. et al. Sofosbuvir / Ledipasvir Without Ribavirin Achieved High Sustained Virologic Response for Hepatitis C Recurrence. **After Liver Transplantation**, v.101, n.5, 2017.

FALADE-NWULIA O. et al. Terapia oral com agente de ação direta para infecção pelo vírus da hepatite C: uma revisão sistemática. *Ann Intern Med*, v. 166, n9, p. 637-648, 2017.

FALLOWFIELD J.; HAYES P. Pathogenesis and treatment of hepatic fibrosis: is cirrhosis reversible? **Clin Med (Lond)**, v.11, n.2, p. 179-83, 2011.

FARIAS, J. C. V.; FARIAS, I. C. C.; MACEDO, P. R.; MOURA, P. M. M. F. Clinical and epidemiological overview of liver fibrosis and hepatocellular carcinoma in patients infected with the hepatitis C vírus. **Research, Society and Development**, v.9, p. 7, 2020.

FERREIRA V. L. et al. Effectiveness and tolerability of direct-acting antivirals for chronic hepatitis C patients in a Southern state of Brazil. **Braz J Infect Dis.**, v.22, p.186-92, 2018.

FOCACCIA R. et al. Demographic and anthropometrical analysis and genotype distribution of chronic hepatitis C patients treated in public and private reference centers in Brazil. **Braz J Infect Dis**, v.8, n.5, p.348–55, 2004.

FRIED, M. W. et al. Once-daily simeprevir (TMC435) with pegylated interferon and ribavirin in treatment-naïve genotype 1 hepatitis C: The randomized PILLAR study. **Hepatology**, v. 58, n. 6, p. 1918-1929, 2013.

FRIEDMAN S.L. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. **Gastroenterology**. v.134, p.1655-69, 2008.

FREITAS, S.Z. et al. Coinfecção HIV e HCV: Prevalência, fatores associados e caracterização dos genótipos na Região Centro-Oeste do Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, n.6, p. 517–524, 2014.

GAGGINI, M. C. R. et al. Correlation between METAVIR scores and Raman spectroscopy in liver lesions induced by hepatitis C virus: a preliminary study. **Lasers in medical science**, v. 30, n. 4, p. 1347-55, 2015.

GIANNINI, E. G.; TESTA, R.; SAVARINO, V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. **Canadian Medical Association Journal**, v. 172, n. 3, p. 367–379, 2005.

GUEDES, R. G. D.; RIBEIRO, M. S. Cirrose hepática: Investigação e interpretação diagnóstica por imagem. **NEWSLAB**, v. 24, p. 30, 2017.

GUTIERREZ J. A. et al. Sofosbuvir and Simeprevir for Treatment of Hepatitis C Virus Infection in Liver Transplant Recipients. **Liver Transpl.** p.1–31, 2015.

GLINGHAMMAR, B. et al. Detection of the mitochondrial and catalytically active alanine aminotransferase in human tissues and plasma. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 23, n. 5, p. 621–631, 2009.

GRESSNER A.M.; WEISKIRCHEN R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF-beta as major players and therapeutic targets. **J Cell Mol Med.**, v.10, p.76-99, 2006.

GOMES, L. O. et al. Hepatitis C in Brazil: lessons learned with boceprevir and telaprevir. **Rev. Inst. Med. Trop**, v. 60, p. 29, 2018.

HAGAN, H. et al. Hepatitis C virus infection among HIV-positive men who have sex with men: protocol for a systematic review and meta-analysis. **Systematic reviews**, London, v. 3, n. 1, p. 31, 2014.

HAJARIZADEH, B.; GREBELY, J.; DORE, G.J. Epidemiology and natural history of HCV infection. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v.10, p.553- 562, 2013.

HOLZMANN I. et al. Effectiveness of chronic hepatitis C treatment with direct-acting antivirals in the public health system in Brazil. **Braz J Infect Dis.**, v.22, p.317-22, 2018.

HOROWITZ, J. M. et al. Evaluation of hepatic fibrosis: a review from the society of abdominal radiology disease focus panel. **Abdominal radiology**, v. 42, n. 8, p. 2037–2053, 2017.

HUANG R. et al. Noninvasive Measurements Predict Liver Fibrosis Well in Hepatitis C Virus Patients After Direct-Acting Antiviral Therapy. **Dig Dis Sci**, v.65, n.5, p. 1491-1500, 2020.

HSU W.F. et al. Rapid decline of noninvasive fibrosis index values in patients with hepatitis C receiving treatment with direct-acting antiviral agents. **BMC Gastroenterol**, v.19, n.1, p.1–9, 2019.

IOANNOU, G. N. et al. Incidence and predictors of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v.5, p.938–945, 2007.

IOANNOU, G. N.; GREEN, P. K.; BERRY, K. HCV eradication induced by directacting antiviral agents reduces the risk of hepatocellular carcinoma. **Journal of Hepatology**, v. 68, n. 1, p. 25–32, 2018.

JACOBSON, I. M. et al. ADVANCE Study Team. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. **The New England Journal of Medicine**, v. 364, n. 25, p. 2405-16, 2011.

KANG Q. et al. Direct antiviral agent treatment leads to rapid and significant fibrosis regression after HCV eradication. **Journal of Viral Hepatitis**, n. 28, p. 1284-92, 2012.

KHAN, S. T. et al. Liver enzyme normalization predicts success of Hepatitis C oral direct-acting antiviral treatment. **Clinical & Investigative Medicine**, v.40, n.2, p.73-80, 2017.

KOHLI, A. et al. Treatment of hepatitis C: a systematic review. **JAMA**, v.12, n.6, p. 631-40, 2014.

KNOP V. et al. Regression of fibrosis and portal hypertension in HCV-associated cirrhosis and sustained virologic response after interferon-free antiviral therapy. **J Viral Hepat**, v.23, n.12, p.994-1002, 2016.

KWO P. Y. et al. An interferon-free antiviral regimen for HCV after liver transplantation. **N Engl J Med**, v.371, n.25, p. 2375–82, 2014.

LANINI, S. et al. Hepatitis C: global epidemiology and strategies for control. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 22, n. 10, p. 833–838, 2016.

LAURSEN T. L. et al. Time-dependent improvement of liver inflammation, fibrosis and metabolic liver function after successful direct-acting antiviral therapy of chronic hepatitis C. **J Viral Hepat**, v.27, n.1, p. 28–35, 2020.

LAWITZ, E. et al. Simeprevir plus sofosbuvir with/without ribavirin in HCV genotype-1 prior null-responder / treatment-naïve patients (COSMOS study): primary endpoint (SVR12) results in patients with METAVIR F3-4 (Cohort 2). **Journal of Hepatology**, 60, p. 524, 2014.

LAVANCHY, D. The global burden of hepatitis C. **Liver International**, v.29, p.74-81, 2009.

LAVANCHY, D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus. **Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 17, n. 2, p. 107-115, 2011.

LEE S. H.; SHIN H. P.; LEE J.I. Real-world single-center experience with direct-acting antivirals for improvement of the liver fibrosis after chronic hepatitis C treatment. **Antivir Chem Chemother**, v. 28, p. 204, 2020.

LIN Z.H. et al. Performance of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the staging of hepatitis C-related fibrosis: an updated meta-analysis. **Hepatology**, v.53,n.3, p.726-36, 2011.

LIU J. et al. Direct-acting antiviral agents for liver transplant recipients with recurrent genotype 1 hepatitis C virus infection: Systematic review and meta-analysis. **Transpl Infect Dis**, v.21, n.2, p.1–12, 2019.

LOBATO, C. M. O. et al. Effectiveness of first-wave protease inhibitors in hepatitis C virus genotype 1 infection: a multicenter study in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, n. 1, p. 14-20, 2018.

LOOMBA, R. et al. The natural history of acute hepatitis C: clinical presentation, laboratory findings and treatment outcomes. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 33, n. 5, p. 559-65, 2011.

LU M. et al. Serum biomarkers indicate long-term reduction in liver fibrosis in patients with sustained virologic response to treatment for HCV infection. **Clin Gastroenterol Hepatol**, v.14, n.7, p.1044-1055, 2016.

MARTÍNEZ-REBOLLAR, M. et al. Current status of acute hepatitis C. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 29, n. 3, p. 210-215, 2011.

MICHELIN B.D.A. et al. **Evaluation of the Abbott RealTime HCV assay for quantitative detection of hepatitis C virus RNA**. v.38, p.96–100, 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. **Hepatites virais. Boletim Epidemiológico**, p. 80, 2021.

MIOTTO N. et al. Predictors of early discontinuation of interferon-free direct antiviral agents in patients with hepatitis C virus and advanced liver fibrosis: results of a real-life cohort. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, v.29, n.10, p.1149-1154, 2017.

MIOTTO N. et al. All-oral direct antiviral treatment for hepatitis C chronic infection in a real-life cohort: The role of cirrhosis and comorbidities in treatment response. **PLoS One**, v.7, p.10-13, 2018.

MEDEIROS T. et al. Adverse effects of direct acting antiviral-based regimens in chronic hepatitis C patients: a Brazilian experience. *Int J Clin Pharm*, v.39, n.6, p. 1304-11, 2017.

MESSINA, J. P. et al. Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. **Hepatology**, v. 61, n. 1, p. 77–87, 2015.

MUCENIC M. et al. Daclatasvir and Sofosbuvir with or without Ribavirin in liver transplant recipients: a single-center real-world study. **Transplant Proc.**, v.50, p.769-71, 2018.

MYERS, R. P.; FONG, A.; SHAHEEN, A. A. M. Utilization rates , complications and costs of percutaneous liver biopsy: a population-based study including 4275 biopsies. **Liver International**, v. 28, n. 5, p. 705–712, 2008.

NELSON, P. K. et al. Global epidemiology of hepatitis B and hepatitis C in people who inject drugs: Results of systematic reviews. **The Lancet**, v. 378, n. 9791, p. 571–583, 2011.

NOGUERAS LÓPEZ F. et al. Therapy With Direct-Acting Antiviral Agents for Hepatitis C in Liver Transplant Recipients. **Transplant Proc**, v.50, n.2, p.631–3, 2018.

OLIVEIRA, J. M. et al. Epidemiological profile of hepatitis c patients: a descriptive study on a regional reference unit. **Revista de Pesquisa: Cuidado é Fundamental Online**, v.7, n.4, p. 3454-3466, 2015.

OLLENDORF D. A.; TICE J. A.; PEARSON S. D. The comparative clinical effectiveness and value of simeprevir and sofosbuvir in the treatment of chronic hepatitis C infection. *JAMA Intern Med*, v.174, n.7, p.1170–1171, 2014.

OMAR H. et al. Longitudinal assessment of hepatic fibrosis in responders to direct-acting antivirals for recurrent hepatitis C after liver transplantation using noninvasive methods. **Clin Transplant**, v.32, n.8, p.0–2, 2018.

OTTO G. A.; PUGLISI J. D. The pathway of HCV IRES-mediated translation initiation. *Cell*, v.119, n.3, p. 369-80, 2004.

PAWLOTSKY, J. M. NS5A inhibitors in the treatment of hepatitis C. **Journal of Hepatology**, v. 59, n. 2, p. 375-382, 2013.

PAWLOTSKY, J. M. New hepatitis C therapies: The toolbox, strategies, and challenges. **Gastroenterology**, v. 146, p. 1176–1192, 2014.

PAWLOTSKY J. M. et al. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2015. **J Hepatol**, v. 63, n.1, p.199–236, 2015.

PEREIRA, L. M. M. B. et al. Prevalência e fatores de risco de infecção pelo vírus da hepatite C no Brasil, 2005 a 2009: estudo transversal. **BMC Infectious Diseases**, v. 13, p. 60, 2013.

PESSOA, M. G. et al. Efficacy and Safety of Ombitasvir/Paritaprevir/Ritonavir and Dasabuvir $\pm$ Ribavirin for HCV in Brazilian Adults with Advanced Fibrosis. *Annals of Hepatology*, v.17, n.6, p. 959–968, 2018.

POORDAD, F. et al. SPRINT-2 Investigators. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. **The New England Journal of Medicine**, v. 364, n. 13, p. 1195-206, 2011.

POORDAD, F. et al. Daclatasvir with Sofosbuvir and Ribavirin for Hepatitis C Virus Infection with Advanced Cirrhosis or Post-Liver Transplantation Recurrence. **Hepatology**, v. 63, n. 5, p. 1493-1505, 2016.

POYNARD T. et al. Slow regression of liver fibrosis presumed by repeated biomarkers after virological cure in patients with chronic hepatitis C. **J Hepatol**, v.59, p.675–683, 2013.

PUNGPAPONG S. et al. Multicenter Experience Using Simeprevir and Sofosbuvir With or Without Ribavirin to Treat Hepatitis C Genotype 1. **After Liver Transplant**. p.1880–6, 2015.

PRICE J.C.; TERRAULT N. A. Treatment of hepatitis C in liver transplant patients: interferon out, direct antiviral combos in. *Liver Transpl*, v.21, n.4, p.423-34, 2015.

REDDY K.R. et al. HCV-TARGET Study Group. All-oral direct-acting antiviral therapy in HCV-advanced liver disease is effective in real-world practice: observations through HCV-TARGET database. **Aliment Pharmacol Ther**, n.45, p.115-126, 2017.

ROCKEY D.C.; FRIEDMAN S.L. Fibrosis Regression After Eradication of Hepatitis C Virus: From Bench to Bedside. **Gastroenterology**, v.160, n.5, p.1502-1520, 2021.

ROLIM F.E. et al. Hepatite crônica pelo vírus C: avaliação da resposta virológica ao tratamento com os novos antivirais de ação direta. **Rev Med UFC**, v.58, n.4, p.8-12, 2018.

SANDRIN L. et al. Shear elasticity probe for soft tissues with 1-D transient elastography. **IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control**, v. 49, n. 4, p. 436–446, 2002.

SEBASTIANI, G. Non-invasive assessment of liver fibrosis in chronic liver diseases: Implementation in clinical practice and decisional algorithms. **World Journal of Gastroenterology**, v. 15, n. 18, p. 2190–2203, 2009.

SETTE-JR, H. et al. Treatment of Chronic HCV Infection with the New Direct Acting Antivirais (DAA): First Report of a Real World Experience in Southern Brazil. **Annals of Hepatology**, v. 16, n. 5, p. 727-733, 2017

SMITH, D. B. et al. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: Updated criteria and genotype assignment web resource. **Hepatology**, v.59, n.1, p.318–327, 2014.

SIMMONDS, P. Viral heterogeneity of the hepatitis C virus. **Journal of Hepatology, Supplement**, v.31, n.1, p.54–60, 1999.

SILVA A.L. et al. Hepatites virais: B, C e D: atualização. **Revista da Sociedade Brasileira Clínica Médica**, v.10, n.3, p.206-18, 2012.

SIQUEIRA, F. M. et al. Quality of life of Brazilian chronic hepatitis C patients treated with interferon-free therapies. **Revista Do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.60, 2018.

SULTAN, M. T.; RAHMAN, M. M.; BEGUM, S. Epidemiology of Hepatitis C Virus (HCV) Infection. **Journal of Bangladesh College of Physicians and Surgeons**, v.27, n.3, p.160–165, 2010.

SULKOWSKI, M. S. et al. Daclatasvir plus Sofosbuvir for Previously treated or Untreated Chronic HCV Infection. **The New England Journal of Medicine**, 370, p. 211-21, 2014.

SCHWABL P. et al. Interferonfree regimens improve portal hypertension and histological necroinflammation in HIV/HCV patients with advanced liver disease. **Aliment Pharmacol Ther**, n. 45, p. 139-149, 2017.

SOOKOIAN, S.; PIROLA, C. J. Liver enzymes, metabolomics and genome-wide association studies: From systems biology to the personalized medicine. **World Journal of Gastroenterology**, v. 21, n. 213, p. 711–725, 2015.

SPAHN CM K. J. et al. Hepatitis C virus IRES RNA-induced changes in the conformation of the 40S ribosomal subunit. **Science**,v.29, p.1959-1962, 2001.

STERLING, R. K. et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. **Hepatology**, v. 43, n. 6, p. 1317–1325, 2006.

STRAUSS, E. Hepatite C. *Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.34, n.1, p.69–82, 2001.

TADA T. et al. Improvement of liver stiffness in patients with hepatitis C virus infection who received direct-acting antiviral therapy and achieved a sustained virological response. **J GastroenterolHepatol**, n.32, p. 1982-1988, 2017.

TANAKA T. et al. Structure of the 3' terminus of the hepatitis C virus genome. **J Virol**, v.70, n.5, p. 3307-12, 1996.

TORRES, A. et al. Sustained Virologic Response Rate In Chronic Hepatitis C Patients Through Direct-Acting Antivirals Therapy. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 56, p. 394-398, 2019.

THIMME, R. et al. Determinants of viral clearance and persistence during acute hepatitis C virus infection. **Journal of Experimental Medicine**, v. 194, n. 10, p. 1395-1406, 2001.

THRIFT, A. P. et al. Global epidemiology and burden of HCV infection and HCV-related disease. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 14, n. 2, p. 122–132, 2017.

TSUKIYAMA-KOHARA, K.; KOHARA, M. Hepatitis C Virus: Viral Quasispecies and Genotypes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 1, p. 23, 2017.

THEIN, H. H. et al. Estimation of stage-specific fibrosis progression rates in chronic 127 hepatitis C virus infection: A meta-analysis and meta-regression. **Hepatology**, v. 48, n. 2, p. 418–431, 2008.

THE AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES; INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICA. **HCV Guidance: Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C**. p. 247, 2017.

THOMSON, B. J.; FINCH, R. G. Hepatitis C virus infection. **Clinical Microbiology Infectious Diseases**, v. 11, p. 86-94, 2005.

VALLET-PICHARD, A. et al. FIB-4: An inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and fibrotest. *Hepatology*, v.46, n.1, p. 32-36, 2007.

VAN BEEK, J.H.D.A. et al. The genetic architecture of liver enzyme levels: GGT, ALT and AST. **Behavior Genetics**, v. 43, n. 4, p. 329–339, 2013.

VAN DER POORTEN, D. et al. Twenty-year audit of percutaneous liver biopsy in a major Australian teaching hospital. **Internal Medicine Journal**, v. 36, n. 11, p. 692–699, 2006.

VASAVADA, B. B.; CHAN, C. L. Rapid fibrosis and significant histologic recurrence of hepatitis C after liver transplant is associated with higher tumor recurrence rates in hepatocellular carcinomas associated with hepatitis C virus-related liver disease: a single center retrospective. **Experimental and clinical transplantation**, v. 13, n. 1, p. 46–50, fev. 2015.

VERSLYPE, C. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. **Acta Clinica Belgica**, v. 59, n. 5, p. 285–289, 2004.

VIANA, M.S.V.B. et al. Use of AST platelet ratio index (APRI Score) as an alternative to liver biopsy for treatment indication in chronic hepatitis C. **Annals Of Hepatology**, v. 8, n. 1, p.26-31, 2009.

VINAIXA C. et al. Recurrence of hepatitis C after liver transplantation. **Ann Gastroenterol**, v.26, p. 304-13, 2013.

VIVALDINI, S. M. et al. A real-life study of the positive response to DAA-based therapies for hepatitis C in Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.25. n.2, p. 101-573, 2021.

XU, Z. et al. Synthesis of a novel hepatitis C virus protein by ribosomal frameshift. **EMBO Journal**, v. 20, n. 14, p. 3840–3848, 2001.

WAI, C. T. et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. **Hepatology**, v. 38, n. 2, p. 518–526, 2003.

WANG, C. C. et al. Fibrosis index based on four factors better predicts advanced fibrosis or cirrhosis than aspartate aminotransferase/platelet ratio index in chronic hepatitis C patients. **Journal of the Formosan Medical Association**, 114:923-928, 2015.

WARD, R. P.; KUGELMAS, M. Using pegylated interferon and ribavirin to treat patients with chronic hepatitis C. **American Family Physician**, Kansas, v. 72, n. 4, p. 655-662, 2005.

WONG R. J., et al. Sustained Improvements in Markers of Liver Disease Severity After Hepatitis C Treatment. **J Clin Exp Hepatol**, n.10, v.2, p.114-123, 2020.

WELZEL T.M. et al.. Assessing Patient Preferences for Treatment Decisions for New Direct Acting Antiviral (DAA) Therapies for Chronic Hepatitis C Virus Infections. **Adv Ther**, v.36, n.9, p. 2475–86, 2019.

WESTBROOK, R.H.; DUSHEIKO, G. Natural history of hepatitis C. **Journal of Hepatology**, v. 61, p. S58-S68, 2014.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines on Hepatitis B and C Testing**. Geneva: World Health Organization. 2017.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Recommendations and guidance on hepatitis C virus self-testing. World Health Organization. 2021. Disponível em:

< <https://www.who.int/publications/i/item/9789240031128>>

XIAO, G.; YANG, J.; YAN, L. Comparison of Diagnostic Accuracy of Aspartate Aminotransferase to Platelet Ratio Index and Fibrosis-4 Index for Detecting Liver Fibrosis in Adult Patients With Chronic Hepatitis B Virus Infection: A Systemic Review and Meta-analysis. **Hepatology**, v. 61, n. 1, p. 292-302, 2015.

YOUNOSSI Z.M. et al. Patient-Reported Outcomes Following Treatment of Chronic Hepatitis C Virus Infection With Sofosbuvir and Velpatasvir, With or Without Voxilaprevir. *Clin Gastroenterol Hepatol*, v.16, p. 567–574, 2018.

YOSRY A. et al. FibroScan, APRI, FIB4, and GUCI: Role in prediction of fibrosis and response to therapy in Egyptian patients with HCV infection. *Arab J Gastroenterol*, v.17, n.2, p.78-83, 2016.

ZANAGA L. P. et al. Recurrent hepatitis C treatment with direct-acting antivirals: a real-life study at a Brazilian liver transplant centre. **Braz J Med Biol Res.**, v.52, p. 8519, 2019.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

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

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS - Resolução 466/12)

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da **“Avaliação da Efetividade e Fatores Preditivos de Resposta Dos Novos Antivirais de Ação Direta (DAAs) em Pacientes Submetidos ao Transplante Hepático em Centros Referência para Hepatites Virais na Cidade de Recife-PE”**, que está sob a responsabilidade da Doutoranda do programa de pós-graduação em Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, ISABELLA PATRÍCIA LIMA SILVA, endereço: Avenida Nápoles, nº 55, Quarta Etapa, Rio Doce, Olinda-PE, CEP:53080-670, Telefone (81) 98881-3817 e e-mail: isabella-patricia1@hotmail.com para contato do pesquisador responsável (inclusive ligações a cobrar). Também participam desta pesquisa os pesquisadores: as alunas de iniciação científica Clarissa Lacerda de Melo telefone para contato: (81) 99631-8525/ e-mail: 1clarissalacerda1@gmail.com e Martha Sá de Lima contato: (81) 982256778/ e-mail: marthasamed@gmail.com e a Pesquisadora Orientadora da pesquisa, Dra. Heloísa Ramos Lacerda de Melo contato: (81) 2126-8534/ e-mail: helramos@terra.com.br.

Caso este Termo de Consentimento contenha informações que não lhe sejam compreensível, as dúvidas podem ser tiradas com a pessoa que está lhe entrevistando e apenas ao final, quando todos os esclarecimentos forem dados, caso concorde com a realização do estudo pedimos que rubricasse as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias, uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável. Caso não concorde, não haverá penalização, bem como será possível retirar o consentimento a qualquer momento, também sem nenhuma penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA

Descrição da pesquisa: O presente estudo possui o objetivo de avaliar a eficácia dos novos tratamentos para hepatite C (Sofosbuvir, Daclatasvir, Simeprevir e Ribavirina), ou seja, a cura da infecção pelo vírus da hepatite C. Sua participação na pesquisa será autorizar a utilização de dados do seu prontuário e os resultados dos exames de rotina que foram realizados para avaliar o controle da sua doença e para preparação da cirurgia. Ao decidir participar da pesquisa você será submetido a alguns **Riscos**, os pacientes selecionados

para participar da pesquisa, serão convidados a responder um questionário/entrevista padronizado para a coleta de dados da pesquisa. Relação entre a utilização destes instrumentos de coleta (questionários e entrevistas), pode ocorrer danos de ordem não-física (emocional, social, moral ou espiritual), causando em algum momento o risco de constrangimento, cansaço (por ter que responder várias perguntas), medo, receio, ou invasão de privacidade, por estar expondo seus dados pessoais. A fim de minimizar esses riscos, as entrevista serão realizadas em um lugar reservado, sendo realizada apenas com o pesquisador e o paciente e todos os dados coletados através do questionário/entrevista serão mantidos em total sigilo, confidencialidade e anonimato dos sujeitos envolvidos na pesquisa. **Benefícios diretos:** Os voluntários da pesquisa passarão por uma avaliação frequente do estado da infecção do vírus da hepatite C, a qual permite que o tratamento seja avaliado mais precocemente e modificado, se necessário mais rapidamente. **Benefícios indiretos:** Serão estendidos a outros pacientes no futuro uma vez que esse estudo possibilitará uma visão mais ampla da atuação desses novos medicamentos sobre a eliminação do vírus na população infectada pelo vírus da Hepatite C, também sendo importante na adesão ao tratamento fornecido pelo SUS e sua consequente efetividade. Portanto, os resultados do estudo deverão refletir a situação clínica da infecção pelo vírus C e sua taxa de cura pela nova terapia na população Pernambucana transplantada.

Todas as informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa (prontuários, questionários e resultados dos exames), ficarão armazenados em (pastas de arquivo da pesquisa, no computadores do pesquisador responsável), sob a responsabilidade do pesquisador responsável (Isabella Patrícia Lima Silva) e no endereço: Avenida Nápoles, nº 55 quarta etapa Rio Doce, Olinda-PE, CEP: 53080-670, Telefone (81) 98881-3817, no período de mínimo 5 anos, onde serão guardados pela equipe de pesquisadores, com acesso restrito apenas aos envolvidos no estudo Nada lhe será pago e nem será cobrado para participar desta pesquisa, pois a aceitação é voluntária, mas fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidas pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação). Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: **(Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br).**

(Assinatura do pesquisador)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____,

_____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo “Avaliação da Efetividade e Fatores Preditivos de Resposta Dos Novos Antivirais de Ação Direta (DAAs) em Pacientes Submetidos ao Transplante Hepático em Centros Referência para Hepatites Virais na Cidade de Recife-PE”, como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo (a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu tratamento e assistência.

Impressão
digital
(opcional)

Local e data _____

Assinatura do participante: _____

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa o aceite do voluntário em participar. (02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:	Assinatura;
Nome:	Assinatura:

APÊNDICE B – FICHA DE COLETA DE DADOS



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

**FORMULÁRIO DE ACOMPANHAMENTO DE PACIENTES EM TRATAMENTO
PARA HEPATITE C COM OS NOVOS ANTIVIRAIS DE AÇÃO DIRETA
(DAA's)**

Informações Iniciais

Serviço: Hospital Universitário Oswaldo Cruz ()

Hospital das Clínicas da UFPE ()

IMIP ()

Nome do Entrevistador: _____

Data da Entrevista: ____/____/____

1. Identificação e Dados Sócio demográficos

1.Nome: _____

2. Nº Prontuário: _____

3.Idade: _____

4. Data de Nascimento: ____/____/____ 5. Sexo: F (

) M ()

6.Procedência: _____

7.Endereço:

8.Bairro: _____ 9.Cidade: _____

10.Tel.: _____

11. Raça: Branca () Parda () Preta () Amarela ()

2. Hábitos de Vida (questionário AUDIT-OMS)

1. Álcool

*RELATO DO PACIENTE:

1.1 Com que frequência consome/consumiu bebidas que contêm álcool **antes do tratamento?**

Nunca () uma vez por mês ou menos () duas a quatro vezes por mês () duas a três vezes por semana

() quatro ou mais vezes por semana ()

1.1.1 **(Caso a resposta for Sim)** Quantas doses de álcool você consome num dia normal?

() 0 ou 1 [0] () 2 ou 3 [1] () 4 ou 5 [2] () 6 ou 7 [3] () 8 ou mais [4]

1.1.2 Com que frequência (quantas vezes por semana) você consome cinco ou mais doses em uma única ocasião?

() Nunca [0] () Menos que uma vez por mês [1] () Uma vez por mês [2] () Uma vez por semana [3] () Quase todos os dias [4]

1.2 Com que frequência consome/consumiu bebidas que contêm álcool **durante o tratamento**?

Nunca () uma vez por mês ou menos () duas a quatro vezes por mês () duas a três vezes por semana

() quatro ou mais vezes por semana ()

1.2.1 **(Caso a resposta for Sim)** Quantas doses de álcool você consome num dia normal?

() 0 ou 1 [0] () 2 ou 3 [1] () 4 ou 5 [2] () 6 ou 7 [3] () 8 ou mais [4]

1.2.2 Com que frequência (quantas vezes por semana) você consome cinco ou mais doses em uma única ocasião?

() Nunca [0] () Menos que uma vez por mês [1] () Uma vez por mês [2] () Uma vez por semana [3] () Quase todos os dias [4]

1.3 Consumiu bebida alcoólica **antes do Transplante**?

Sim () Não ()

1.3.1 **(Caso a resposta for Sim)** Quantas doses de álcool você consome num dia normal?

() 0 ou 1 [0] () 2 ou 3 [1] () 4 ou 5 [2] () 6 ou 7 [3] () 8 ou mais [4]

1.3.2 Com que frequência (quantas vezes por semana) você consome cinco ou mais doses em uma única ocasião?

() Nunca [0] () Menos que uma vez por mês [1] () Uma vez por mês [2] () Uma vez por semana [3] () Quase todos os dias [4]

1.4 Consumiu bebida alcoólica **após o Transplante**?

Sim () Não ()

1.4.1 **(Caso a resposta for Sim)** Quantas doses de álcool você consome num dia normal?

() 0 ou 1 [0] () 2 ou 3 [1] () 4 ou 5 [2] () 6 ou 7 [3] () 8 ou mais [4]

1.4.2 Com que frequência (quantas vezes por semana) você consome cinco ou mais doses em uma única ocasião?

() Nunca [0] () Menos que uma vez por mês [1] () Uma vez por mês [2] () Uma vez por semana [3] () Quase todos os dias [4]

***RELATO DO PRONTUÁRIO**

1.3 Em caso de impossibilidade de preenchimento das questões acima, consta no prontuário:

***RELATO DO MÉDICO**

1.3 Em caso de impossibilidade de preenchimento das questões acima, perguntar ao médico que acompanha o paciente:

2. Tabagismo

2.1. Atualmente você fuma? sim () não ()

2.2. Em caso positivo, quantos cigarros você fuma por dia? 1-4 () 5-9 () 10-14 () 15-19 ()

30-39 () 40 ou + ()

2.3. Em que idade começou? _____

2.4. Em caso de impossibilidade de preenchimento das questões acima, **consta no prontuário:**

3. Uso de Drogas Ilícitas (questionário ASSIST OMS)

3.1. Na sua vida qual(is) desta(s) substância(s) você já usou?

Maconha () cocaína, crack () anfetaminas ou êxtase () inalantes ()
hipnóticos/sedativos ()

Alucinógenos () opioides/opiáceos () outras: _____ ()

3.2. Durante os três últimos meses, com que frequência você utilizou essa(s) substância(s) que mencionou?

(primeira droga, depois a segunda droga etc.)

{Nunca (1) 1 ou 2 vezes mensalmente (2) semanalmente (3) diariamente ou quase todos os dias (4)}

Maconha () cocaína, crack () anfetaminas ou êxtase () inalantes ()
hipnóticos/sedativos ()

Alucinógenos () opioides/opiáceos () outras: _____ ()

3.3. Em caso de impossibilidade de preenchimento das questões acima, **consta no prontuário:**

4. Adesão ao Tratamento

4.1. RELATOS DE PROBLEMAS DURANTE O TRATAMENTO DE MÁ ADESÃO PELO MEDICO OU PRONTUÁRIO: _____

4.2 ADESÃO AO TRATAMENTO (Questionário MBG)

4.2.1. Toma os medicamentos no horário estabelecido?

() Sempre () Quase sempre () Às vezes () Quase nunca () Nunca

4.2.2. Você toma todas as doses indicadas?

() Sempre () Quase sempre () Às vezes () Quase nunca () Nunca

4.2.3. Assiste às consultas de seguimento programadas?

☐ Sempre ☐ Quase sempre ☐ Às vezes ☐ Quase nunca ☐ Nunca

4.2.4 Você dá continuidade ao seu tratamento sem realizar grandes esforços?

Sempre ☐ Quase sempre ☐ Às vezes ☐ Quase nunca ☐ Nunca

4.2.5 Utiliza lembretes que facilitem a realização do tratamento?

☐ Sempre ☐ Quase sempre ☐ Às vezes ☐ Quase nunca ☐ Nunca

4.2.6 Você e seu médico analisam como cumprir o tratamento?

☐ Sempre ☐ Quase sempre ☐ Às vezes ☐ Quase nunca ☐ Nunca

4.2.7. Você tem a possibilidade de manifestar sua aceitação do tratamento prescrito pelo médico?

☐ Sempre ☐ Quase sempre ☐ Às vezes ☐ Quase nunca ☐ Nunca

4.4 COMPREENSÃO DA UTILIZAÇÃO DOS MEDICAMENTOS

4.4.1. Sabe o nome de todos os medicamentos prescritos? () Sim () Não

4.4.2. Sabe a dose de todos os medicamentos prescritos? () Sim () Não

4.4. 3. Sabe o intervalo entre as doses de todos os medicamentos? () Sim ()

Não

4.4.4. Sabe para que servem? () Sim () Não

4.4.5. Sabe até quando vai tomar os medicamentos? () Sim () Não

3. Antecedentes pessoais

1. Apresenta alguma dessas **comorbidades**? Diabetes () Hipertensão () Hepatite B () HIV ()

Obesidade () Cirrose () Esteatose hepática () Esquistossomose () Outras ()

1.1.

Qual(is)? _____

2. Se a resposta for positiva, quais **medicamentos em uso** para tratamento?

2.1.

Nome: _____

4. Infecção pelo HCV

1. Data do diagnóstico: ____/____/____ 2. Genótipo: _____

3. Submeteu-se a **transplante hepático**? Sim () Não ()

3.1 Data do transplante: ____/____/____

3.2 Causa do transplante: _____

4. Qual o esquema de imunossupressão utilizado?

FK (Tacrolimo) () MMF (Myfortic) () PRED (Prednisona) () SYR (Sirolimo) ()
() CELLCEPT (Micofenolato demofetila) ()

5. Submeteu-se a **tratamento anterior** para a Hepatite? Sim () Não ()

5.1. Em caso positivo, qual foi o esquema utilizado? _____

6. Qual a data da **última biópsia pré-tratamento** atual? ____/____/____

6.1. Resultado: _____

6.2 **Apri:** $\leq 0,5$ ($\leq F2$) ()

$>1,5$ ($\geq F2$) ()

7.3 Grau de fibrose (Metavir): F0 () F1 () F2 () F3 () F4 ()

7.4 Qual a data da **última ultrassonografia pré-tratamento** atual? ____/____/____

7.5 Resultado: parênquima normal () parênquima heterogêneo () fibrose ()

cirrose/hipertensão portal ()

8. Qual a data do último **Arfi/Fibroscan pré-tratamento** atual? ____/____/____

8.1. Resultado: F0 () F1 () F2 () F3 () F4 ()

9. Tratamento atual

9.1. Qual o **esquema de tratamento** para Hepatite C escolhido?

Sofosbuvir () Daclatasvir () Simeprevir () Ribavirina () PEG-IFN 2 α () PEG-IFN 2 β

()

9.2. Data de início: ____/____/____ Data término: ____/____/____

Tempo de tto: 12 Semanas () 24 Semanas ()

9.3. Qual a resposta virológica ao tratamento? (pode haver mais de um opção correta)

Não respondedor (RNA-HCV detectável ao final do tratamento) ()

RVS12 (Resposta Virológica Sustentada: RNA-HCV indetectável na 12^a semana pós-tratamento) ()

RVS24 (Resposta Virológica Sustentada: RNA-HCV indetectável na 24^a semana pós-tratamento) ()

10. Exames após Tratamento:

10.1 APRI/ FIBI-4/ METAVIR:

10.2 USG:

DATA:

RESULTADO:

10.3 SURGIMENTOS DE NODULOS HEPATICOS:

() SIM () NÃO

10.4 REAÇÕES ADVERSA AO TRATAMENTO:

() SIM () NÃO

10.ExamesComplementares

Data	Carga Viral	Log	Técnica (kit)
Pré-tratamento ____/____/____			
Tratamento ____/____/____ 4ª semana			
Tratamento ____/____/____ 12ª ou 24ª semana			
Pós-tratamento ____/____/____ 12ª semana			
Pós-tratamento ____/____/____ 24ª semana			

APÊNDICE C – VERSÃO DO ARTIGO 1 EM INGLÊS

REVISTA
DO
INSTITUTO
DE
MEDICINA
TROPICAL
DE
SÃO PAULO

JOURNAL OF THE SÃO PAULO
INSTITUTE OF TROPICAL MEDICINE

¹Universidade Federal de Pernambuco,
Centro de Ciências Médicas, Pós-
Graduação em Medicina Tropical, Recife,
Pernambuco, Brazil

²Universidade Federal de Pernambuco,
Hospital das Clínicas, Serviço de
Gastroenterologia e Hepatologia, Recife,
Pernambuco, Brazil

³Universidade Federal de Pernambuco,
Centro de Ciências Médicas, Departamento
de Medicina Clínica, Recife, Pernambuco,
Brazil

⁴Universidade de Pernambuco, Unidade
de Transplante do Fígado, Recife,
Pernambuco, Brazil

⁵Instituto Professor Fernando Figueira de
Medicina Integral, Unidade de Transplante
Geral, Serviço de Hepatologia, Recife,
Pernambuco, Brazil

⁶Escola de Saúde de Pernambuco, Recife,
Pernambuco, Brazil

⁷Faculdade Maurício de Nassau, Recife,
Pernambuco, Brazil

⁸Hospital Oswaldo Cruz, Serviço de Cirurgia
Geral, Recife, Pernambuco, Brazil

⁹Universidade Federal de Pernambuco,
Hospital das Clínicas, Laboratório Clínico,
Recife, Pernambuco, Brazil

¹⁰European Virus Bioinformatics Center,
Jena, Germany

¹¹Universidade de Pernambuco,
Departamento de Cirurgia, Recife,
Pernambuco, Brazil

Correspondence to: Kledaldo Lima
Universidade Federal de Pernambuco,
Hospital das Clínicas, Laboratório Clínico,
Av. Professor Moraes Rego, 1235,
CEP 50670-901, Recife, PE, Brazil

E-mail: kledaldo@gmail.com

Received: 30 August 2020

Accepted: 14 December 2020

Rev Inst Med Trop São Paulo. 2021;63:e6

ORIGINAL ARTICLE

<http://doi.org/10.1590/S1678-9946202163006>

**A real-life study on the impact of direct-acting antivirals in the
treatment of chronic hepatitis C in liver transplant recipients
at two university centers in Northeastern Brazil**

Isabella Patrícia Lima Silva¹, Andrea Dória Batista², Edmundo Pessoa
Lopes³, Norma Arteiro Filgueira³, Bernardo Times de Carvalho⁴, Joelma
Carvalho Santos¹, Tibério Batista de Medeiros⁵, Clarissa Ramos Lacerda
de Melo⁶, Martha Sá de Lima^{7,8}, Kledaldo Lima^{9,10}, Claudio Lacerda^{4,11},
Heloisa Ramos Lacerda^{1,3}

ABSTRACT

The efficacy of direct-acting antivirals (DAAs) in the treatment of chronic hepatitis C (CHC) in liver transplant recipients is poorly understood, and several factors, including immunosuppression, drug interactions, elevated viraemia, and intolerance to ribavirin (RBV), can reduce cure rates. We conducted a real-life study on liver transplant recipients with CHC treated with a combination of sofosbuvir (SOF) and daclatasvir (DCV) or simeprevir (SIM), with or without RBV, followed-up for 12 to 24 weeks. The treatment effectiveness was assessed by determining the sustained virological response (SVR) rates at 12 or 24 weeks after the treatment cessation. Eighty-four patients were evaluated, with a mean age of 63.4 ± 7.4 years, HCV genotype 1 being the most prevalent (63.1%). Nineteen patients (22.7%) had mild fibrosis (METAVIR < F2) and 41 (48.8%) significant fibrosis (METAVIR $\geq$ F2). The average time between liver transplantation and the start of treatment was 4 years (2.1-6.6 years). The SOF + DCV regimen was used in 58 patients (69%). RBV in combination with DAAs was used in seven patients (8.3%). SVR was achieved in 82 patients (97.6%), and few relevant adverse events could be attributed to DAA therapy, including a patient who stopped treatment due to a headache. There was a significant reduction in ALT, AST, GGT and FA levels, or the APRI index after 4 weeks of treatment, which remained until 12/24 weeks post-treatment. DAA treatment of CHC in liver-transplanted patients achieved a high SVR rate and resulted in the normalization of serum levels of liver enzymes.

KEYWORDS: Chronic hepatitis C. Direct-acting antiviral. Liver transplant. Sofosbuvir. Effectiveness. Brazil. Liver transplant recipient.

INTRODUCTION

The global prevalence of hepatitis C virus (HCV) infection is estimated at 1%, corresponding to 71.1 million viraemic subjects worldwide^{1,2}. Chronic hepatitis C (CHC) was the third leading cause of liver transplantation in the United States of America (USA) in 2017, and over the last 15 years, it has accounted for 54% of indications for liver transplantation due to cirrhosis in Europe³. In Brazil, in 2019, it has been estimated that 22,747 thousand people were infected with HCV³, with genotypes 1 and 3 being the most frequent⁴, and these genotypes are also predominant in Northeast Brazil⁵. Between 2000 and 2015, CHC accounted for more than 70% of the 46,314 deaths caused by viral hepatitis in Brazil⁶.



This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.

Page 1 of 10

A sustained virological response (SVR) is defined as undetectable HCV at 12 or more weeks after the end of treatment, which is associated with a reduction in serum levels of liver enzymes due to an improvement of the necro-inflammatory activity in the liver parenchyma, with subsequent reductions in the progression of liver fibrosis and mortality⁷. In patients with active CHC undergoing liver transplantation, recurrence of the infection in the transplanted liver is universal, with a negative impact on graft and patients' survival^{3,7}. In these patients, the viral load may be even higher than in non-transplanted patients⁷. Due to the high rate of graft reinfection and accelerated progression of the liver disease, liver fibrosis is observed in approximately 30% to 40% of transplanted patients with CHC, and progression to cirrhosis occurs within approximately five years⁸. Accordingly, recipients' survival after liver transplantation are reduced in HCV-infected recipients compared to uninfected ones⁷.

For many years, interferon (IFN)-based antiviral therapies have been the main treatment option for CHC⁷. The first generation of direct acting antivirals (DAAs), boceprevir and telaprevir, has been used in combination with pegylated (PEG)-IFN and ribavirin (RBV)⁹. However, these therapeutic regimens have limited efficacy, and cause several side effects, in addition to achieving only low SVR rates in transplant recipients¹⁰. The first studies employing second-generation DAAs, such as sofosbuvir, a nucleotide analogue that inhibits the HCV polymerase, in combination with simeprevir, a protease inhibitor, or daclatasvir, an NS5A inhibitor, in the treatment of CHC in liver transplant recipients, revealed SVR rates of approximately 80%, which were still lower than the SVR rates observed in non-transplanted patients that exceeds 90%^{11,12}.

As of 2015, the Brazilian Ministry of Health (MS) made CHC therapy available to patients in the Unified Health System (SUS), including sofosbuvir, combined with simeprevir or daclatasvir, with or without RBV¹³. Indication of treatment for transplant recipients was considered a priority, regardless of the stage of fibrosis^{13,14}. Although DAAs have revolutionized the CHC therapy, some factors can reduce SVR rates in liver transplant recipients, including the presence of comorbidities, drug interactions and lower tolerance to RBV^{7,14}. Based on previously published literature, there are reports on the treatment of HCV infections with DAAs in Brazil, reaching SVR rates between 92% and 95%¹⁵⁻¹⁸. However, only three studies included exclusively liver transplant recipients, all in the South and Southeast regions of the country¹⁹⁻²¹. This study aimed to describe the SVR rates after treatment of patients with CHC having undergone liver transplantation and treatment with

sofosbuvir and daclatasvir or simeprevir, with or without RBV, in a real life study in the Brazilian Northeast region.

MATERIALS AND METHODS

Study design and population

As part of this retrospective observational study, we included liver transplant recipients diagnosed with CHC, who had been treated with sofosbuvir and daclatasvir or simeprevir, with or without RBV. Patients were selected in two hepatology reference centers located in Northeast Brazil, from December 2015 to March 2019. For the recruitment, liver transplant recipients had to be aged 18 years or older, undergone liver transplantation, diagnosed with CHC based on the presence of anti-HCV antibodies for more than six months, present with positive HCV RNA detected by quantitative PCR, and subjected to treatment with second-generation DAAs. Pregnant women and those subjects coinfect with the human immunodeficiency virus (HIV) or who received other organ transplants were excluded from the study. Patients were followed-up until the assessment of SVR rates at 12 or 24 weeks after the end of treatment. During this period, interviews were conducted, and data were obtained from medical records using a standardized questionnaire for research purposes, which included demographic data and clinical characteristics. The variables studied were age, sex, viral load, HCV genotype, liver fibrosis staging (determined by liver biopsy or APRI and/or FIB4 scores), treatment status (naïve or treated), immunosuppressants in use, therapeutic regimen and duration and response to treatment with DAAs. All clinical data of the patients were recorded in a research database. All individuals used immunosuppressive therapy: tacrolimus and/or mycophenolate sodium or mofetil and/or prednisone and/or sirolimus.

This study was approved by the Research Ethics Committee of the Health Sciences Center of the Federal University of Pernambuco (CCS-UFPE), Recife, Brazil, under the protocol N° 2,383,189/2018. All patients who agreed to participate in the study signed a free and informed consent form (ICF).

Clinical and laboratory evaluations

Clinical evaluations and blood sampling for laboratory tests were carried out in the following periods: up to 3 months before the start of treatment, at week 4 of treatment, at the end of treatment, and 12 or 24 weeks after the end of treatment. Biochemical and hematological analyses included assessment of haemoglobin (Hb), platelets count, aspartate

aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), gamma-glutamyl transferase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), bilirubin (Bt), creatinine (Cr) and albumin levels. All analyses were performed in the laboratories of the two reference centers, and laboratory data were collected from medical records.

Quantification of HCV RNA

Quantification of HCV RNA was performed at the Central Laboratory of Pernambuco (LACEN-PE) using real-time PCR (qPCR) (Abbott Diagnostics®, Chicago, IL, USA), with a quantification range of 12 to 10⁸ IU/mL, using the m2000 Real-Time System (Abbott®, Chicago, IL, USA)²². The 5' untranslated region (UTR) was used as a target for detection of HCV load²³.

HCV RNA was quantified up to 3 months before the start of treatment, at week 4 of treatment, at the end of treatment, and at week 12 or 24 after the end of treatment to assess the SVR rate. SVR was defined as undetectable levels of HCV RNA at 12 or 24 weeks after the end of the antiviral therapy. Virological failure was defined as detectable HCV RNA at 12 or 24 weeks after the end of treatment.

Assessment of hepatic fibrosis

The stage of liver fibrosis was assessed by biopsy performed up to one year before starting the treatment or by serological indices APRI (based on the AST ratio and platelets count), and FIB-4 (based on age, AST and ALT levels, and platelets count) up to three months before starting the treatment²⁴. To assess the extent of liver fibrosis through biopsy, the METAVIR scoring system was used (F0 = no fibrosis; F1 = mild fibrosis; F2 = moderate fibrosis; F3 = advanced fibrosis; F4 = cirrhosis)²⁵. For the APRI score, the lower and upper cutoff points of 0.5 and 1.50 were used to diagnose the absence and presence of significant fibrosis (METAVIR ≥ F2). For the FIB4 score, the lower and upper cut-off points of 1.45 and 3.35 were used to diagnose the absence and presence of advanced fibrosis (METAVIR ≥ F3)²⁶.

CHC therapy

The treatment scheme for CHC, including time, dosage, and whether or not RBV should be used, followed the Clinical Protocol and Therapeutic Guidelines for Hepatitis C and Coinfections (PCDT) 2015/2019^{13,27}, provided by the Brazilian Ministry of Health, which is based on the viral genotype, previous experimentation with DAAs, and fibrosis stage, summarised as follows:

- genotype 1: sofosbuvir plus simeprevir or daclatasvir, with or without RBV;
- genotype 2: sofosbuvir and RBV;
- genotype 3: sofosbuvir and daclatasvir, with or without RBV.

All treatment regimens were administered for 12 or 24 weeks. The addition of RBV was optional, especially when there were predictors of a worse virological response, such as cirrhosis or previous null response^{13,27}.

Statistical analysis

Regarding the descriptive analysis of the demographic and clinical data of the transplant recipients, the frequencies of qualitative variables, as well as the mean ± standard deviation or median (25th-75th percentile) of continuous variables were evaluated. The normal distribution of continuous variables was verified by applying the Shapiro-Wilk normality test.

Differences between the different time points of serial evaluations of biochemical and hematological parameters and hepatic fibrosis staging (before the start of treatment, at week 4 and at the end of treatment, and after 12 or 24 weeks after the end of treatment) were assessed using the paired t-test, whenever normality and homogeneity of variance testing allowed it, or the Wilcoxon signed-rank test for data with non-parametric distribution. Differences were considered statistically significant at a $p < 0.05$. The SPSS Statistics software, version 25 for Windows (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) was used for statistical analyses.

RESULTS

Eighty-seven liver transplant recipients with CHC were evaluated between December 2015 and March 2019. Of these, three (3.4%) were excluded: one due to HIV coinfection, and two for having a transplanted kidney. The clinical and demographic characteristics of the 84 patients included in this study are shown in Table 1. Male sex predominated (63.1%), and the mean age was 63.4 ± 7.4 years. Genotype 1 was observed in 53 patients (63.1%). Diabetes mellitus and systemic arterial hypertension were the most frequent comorbidities, present in 48.9% and 52.3% of patients, respectively. Tacrolimus was used by 62 (74%) patients, either as single therapy or in combination with mycophenolate.

The median time between liver transplantation and start of the current treatment was 4 years (2.1-6.6 years). Among the 84 patients, 19 (22.7%) had mild fibrosis (METAVIR < F2), 41 (48.8%) had significant or moderate

Table 1 - Demographic and clinical characteristics of 84 liver transplant recipients with chronic hepatitis C, treated with sofosbuvir associated with daclatasvir or simeprevir, Northeast - Brazil, 2015-2019.

Characteristics	N = 84	
Gender, n (%)		
Male	53	(63.1)
Female	31	(36.9)
Age (years)*	63.4	(± 7.4)
Ethnicity, n (%)		
White	28	(33.3)
Mixed (black and white)	52	(61.9)
Black	4	(4.8)
State (Northeast - Brazil)		
Pernambuco	61	(72.6)
Paraíba	10	(11.9)
Alagoas	7	(8.3)
Others	6	(7.1)
Comorbidities	77	(91.7)
Diabetes mellitus	36	(42.9)
Systemic arterial hypertension	49	(58.3)
Hepatitis B	4	(4.8)
Obesity	3	(3.6)
HCV Genotype		
1	13	(15.4)
1 a	5	(6.0)
1 b	35	(41.7)
2	1	(1.2)
3	21	(25.0)
3 a	8	(9.5)
3 e 4	1	(1.2)
Immunosuppression		
Tacrolimus	21	(25.0)
Mycophenolate sodium	6	(7.1)
Tacrolimus + Mycophenolate sodium	38	(45.2)
Tacrolimus + mycophenolate mofetil	3	(3.6)
Prednisona + Mycophenolate sodium	5	(6.0)
Sirolimus + Mycophenolate sodium	11	(13.1)

*Mean ± standard deviation.

fibrosis (METAVIR = F2), and 24 (28.5%) had advanced liver fibrosis and/or cirrhosis (METAVIR > F2). Hepatocellular carcinoma (HCC) was diagnosed in five patients (6.0%) before CHC treatment; another two patients (2.4%) were diagnosed with HCC after the end of the current treatment. Both had undergone liver transplantation more than five

years ago, one of them had mild fibrosis (METAVIR < F2), and the other had advanced liver fibrosis/ cirrhosis (METAVIR F3-F4).

Table 2 describes the treatment regimens and responses to DAAs. Among the 84 patients, 41 (48.8%) had previously been treated with IFN or PEG-IFN together with RBV, as follows: 12 (14.3%) with IFN + RBV and 20 (23.8%) with PEG + RBV. Two patients (2.4%) were treated with first-generation protease inhibitors, one with boceprevir and the other with telaprevir.

For the current treatment, combination therapy with SOF + DCV was the most frequent, which was used for treating 58 patients (69%), with RBV being administered in

Table 2 - Characteristics of previous and the current treatment of CHC with sofosbuvir associated with daclatasvir or simeprevir, in 84 liver transplant recipients with chronic hepatitis C, Northeast - Brazil, 2015-2019.

Characteristics	(N=84)	
Previous treatment, n (%)		
Yes	41	(48.8)
No information	1	(1.2)
Previous treatment regimen, n (%)		
Naive	42	(50.0)
IFN	3	(3.6)
IFN+RBV	12	(14.3)
PEG IFN	4	(4.8)
PEG IFN+RBV	20	(23.8)
Boceprevir	1	(1.2)
Telaprevir	1	(1.2)
No information	1	(1.2)
Previous treatment, n (%)		
Recurrent	7	(8.3)
Non-responder	25	(29.8)
Intolerant	9	(10.7)
No information	1	(1.2)
Current treatment regimen, n (%)		
SOF+SMV	19	(22.6)
SOF+DCV	58	(69.0)
SOF+DCV+RBV	6	(7.1)
SOF+SMV+RBV	1	(1.2)
Treatment duration, n (%)		
12 weeks	80	(95.2)
SVR, n (%)	82	(97.6)

*Mean ± standard deviation; IFN = interferon; Peg-IFN = pegylated interferon; DCV = daclatasvir; SMV = simeprevir; SOF = sofosbuvir; RBV = ribavirin; SVR = sustained virological response.

six patients (7.1%). The SOF + SMV combination treatment was used in 19 patients (22.6%), with RBV administered to only one individual (1.2%). Among the 84 patients, SVR was achieved in 82 (97.6%). In 38 and 44 patients, HCV RNA screening was carried out 12 and 24 weeks after the end of treatment, respectively. The two patients for whom SVR was not achieved, did not complete the treatment with DAAs according to the proposed scheme, and were considered non-responders in the intention-to-treat assessment. One of them used the SOF + SIM combination treatment for only four weeks with errors, and another patient developed headache during the first week of SOF + SIM treatment and, on his own, suspended the therapeutic regimen.

Adverse events were recorded in 18 (25%) patients: fatigue ($n = 6 - 8.3\%$), headache ($n = 5 - 6.9\%$), abdominal pain in 4 ($n = 4 - 5.6\%$), dizziness ($n = 3 - 4.2\%$), nausea ($n = 2 - 2.8\%$), diarrhea ($n = 2 - 2.8\%$), depressive symptoms ($n = 1 - 1.4\%$), spontaneous sweating ($n = 1 - 1.4\%$) and skin lesions ($n = 1 - 1.4\%$). In only one of these patients, the treatment was suspended due to a headache related to the use of DAAs. No drug interaction was observed with any of the antiviral regimens used. Prior to the prescription of the antiviral regimen, an assessment was made regarding possible interactions, particularly with the immunosuppressants in use.

Serial assessment of biochemical and hematological parameters, as well as liver fibrosis staging is described in Table 3 and Figure 1. Hemoglobin levels and platelet counts in transplant recipients remained stable at 12 and 24 weeks after the end of treatment. In addition, there was a significant reduction in the serum concentrations of ALT, AST, GGT and ALP at week 4, which was maintained up to 24 weeks after the treatment. The mean values of APRI and FIB-4 showed a significant reduction at week four of treatment, which was maintained until the end (Figure 2).

DISCUSSION

This real-life study describes the treatment of recurrent HCV infection after liver transplantation using DAAs in two public university hospitals in Northeast Brazil. It covers a specific population, for which the evolution of CHC is more aggressive, and whose treatment with IFN, even in the PEG formulation, presents a very low chance of SVR due to drug interactions, in addition to providing several side effects and difficulties in adjusting the doses of immunosuppressants.

This study included 84 liver transplant recipients with CHC, who were treated with second-generation DAAs, achieving a SVR of 97.6%. These data are similar to those observed in a French cohort, which evaluated treatment

with SOF + CVD in 137 transplant patients with HCV recurrence, and showed a SVR rate of 96%, regardless of whether RBV was used²⁸. Likewise, in the ALLY-1 study, which involved 53 liver transplant patients followed-up for 12 weeks and RVS12 was achieved in 95% and 91% of patients with genotypes 1 and 3, respectively²⁹. The same was reported in a study by Gutierrez *et al.*³⁰, who evaluated treatment regimens of SOF + SMV for 12 weeks, and found SVR in 93.4% of 57 liver transplant recipients with CHC³⁰.

Three national studies have shown SVR rates between 90% and 98% after treatment of liver-transplanted patients with CHC using DAAs¹⁹⁻²¹. The characteristics of the transplanted patients with CHC included in this study, i.e., associated predominantly with HCV genotype 1 and mild fibrosis, can justify the high SVR rates, very similar to those found by Araujo *et al.*²⁰ and Zanaga *et al.*²¹. In fact, in a study carried out in Sao Paulo including 53 patients, 23% of which had mild fibrosis (F0-F1), while 43% presented with moderate fibrosis (F2), the SVR rate was 98%, with virological failure occurring only in one cirrhotic patient²¹. On the other hand, a study by Mucenic *et al.*¹⁹ used AEDs on 39 liver-transplanted patients with CHC in Southern Brazil, with a predominance of HCV genotype 3, revealing a SVR rate of 90%, which was slightly lower than that described in our study and the other two Brazilian studies¹⁹. It is possible that the lower response rate was due to the predominance of genotype 3 two thirds of the cases), and more patients with advanced fibrosis (F4) being included. These two factors, genotype 3 and advanced fibrosis/cirrhosis are predictive of lower SVR in both transplanted and non-transplanted patients^{31,32}.

When evaluating large samples, differences in SVR rates were observed according to the different genotypes. In a Brazilian study, including the largest survey in Latin America of patients with CHC treated with second-generation DAAs, coordinated by the Brazilian Society of Hepatology (BSH), including 20 Brazilian States and 3,939 patients, SVR rates were higher than 95% and about 90% in patients with genotypes 1 and 3, respectively, varying depending on the type of therapeutic scheme, sex, and the presence of decompensated cirrhosis³³. The results presented in our study on transplanted patients with CHC are similar to those of the multicentre study of the BSH, possibly due to the very similar distribution of HCV genotypes, with a predominance of genotype 1^{5,33}. Additionally, a multicentre study on the efficacy of DAAs upon treatment of 123 transplanted patients with CHC conducted in three transplant centres in the USA demonstrated that the SVR rate was lower in those with advanced fibrosis (METAVIR F3-F4, 81%) compared to those with mild and moderate fibrosis (METAVIR F0-F2, 93 %) ³¹. Similar results were

Table 3 - Biochemical, hematological characteristics and liver fibrosis staging in 84 liver transplant recipients with chronic hepatitis C, treated with sofosbuvir associated with daclatasvir or simeprevir, Northeast - Brazil, 2015-2019.

Characteristics	Before treatment	Treatment week 4	End of Treatment	Week 12 post-treatment	Week 24 post-treatment	p1	p2	p3	p4
Hemoglobin (g/dL) [†]	13.2 ±1.9	12.9 ±2.3	12.9 ±2.1	12.9 ±1.2	14.1 ±1.9	0.149 ^a	0.552 ^a	0.332 ^a	0.001^a
Platelets (x 10 ⁹ /mL) [†]	165 ±68	174 ±73	171 ±63	178 ±51	172 ±74	0.300 ^a	0.220 ^a	0.133 ^a	0.683 ^a
AST (U/L) [‡]	53.0 (34.0-85.0)	27.5 (20.0-34.5)	23.0 (17.0-31.0)	22.0 (17.0-31.2)	24.0 (20.0-34.0)	<0.001^b	<0.001^b	<0.001^b	<0.001^b
ALT (U/L) [‡]	70.0 (43.0-120.0)	26.5 (17.0-46.2)	20.0 (15.0-34.5)	22.5 (16.0-39.0)	24.0 (16.0-46.0)	<0.001^b	<0.001^b	<0.001^b	<0.001^b
GGT (U/L) [‡]	137.5 (82.2-309.8)	85.5 (38.8-136.8)	62.0 (27.1-117.0)	75.6 (34.5-108.5)	63.0 (28.5-122.5)	<0.001^b	<0.001^b	0.002^b	<0.001^b
ALP (U/L) [‡]	119.0 (96.0-209.0)	99.0 (69.0-138.0)	92.0 (69.0-138.0)	95.5 (61.8-173.8)	107 (75.0-151.0)	<0.001^b	<0.001^b	<0.001^b	<0.001^b
Total bilirubin (mg/dL) [‡]	0.70 (0.50-1.00)	0.70 (0.50-0.88)	0.60 (0.40-0.83)	0.57 (0.39-0.90)	0.61 (0.46-0.87)	0.040^a	0.005^b	0.079 ^b	0.022^a
Albumin (mg/dL) [‡]	4.30 (4.00-4.59)	4.20 (3.92-4.40)	4.10 (4.00-4.40)	4.20 (4.00-4.49)	4.25 (4.00-4.60)	0.055 ^b	0.866 ^b	0.810 ^b	0.088 ^b
Creatinine (mg/dL) [†]	1.03 ±0.36	1.02 ±0.32	1.08 ±0.38	1.21 ±0.46	1.03 ±0.31	0.574 ^a	0.326 ^a	0.016^a	0.072 ^a
APRI [‡]	0.75 (0.52-1.68)	0.41 (0.29-0.69)	0.43 (0.27-0.76)	0.33 (0.25-0.69)	0.41 (0.24-0.66)	<0.001^b	<0.001^b	0.002^b	0.002^b
FIB-4 [‡]	2.63 (1.68-4.42)	2.06 (1.52-2.75)	2.12 (1.44-2.64)	2.04 (1.39-2.69)	2.01 (1.28-3.29)	0.001^b	<0.001^b	<0.001^b	0.033^b

[†]Mean ± standard deviation; [‡] Median (P25-P75); p-value of the analysis using the stratum "before treatment" as a reference and comparing it with "week 4" (p1), "end of treatment" (p2), "week 12 post-treatment" (p3) and "Week 24 post-treatment" (p4). ^aTest paired; the test of Wilcoxon signed posts. ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; GGT: gamma-glutamyl transferase.

A real-life study on the impact of direct-acting antivirals in the treatment of chronic hepatitis C

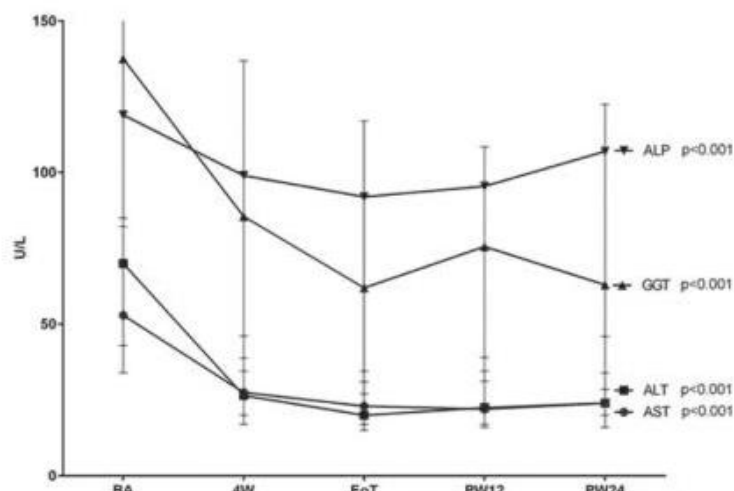


Figure 1 - Comparison of liver enzymes: ALP (U/L); GGT (U/L); ALT (U/L); AST (U/L), at different times: before treatment/baseline (BA); week 4 of treatment (4W); end of treatment (EoT); week 12 post-treatment (PW12); and week 24 post-treatment (PW24) of 84 liver transplant recipients with chronic hepatitis C, treated with sofosbuvir associated with daclatasvir or simeprevir. Comparisons made with Median and percentiles (P25-P75).

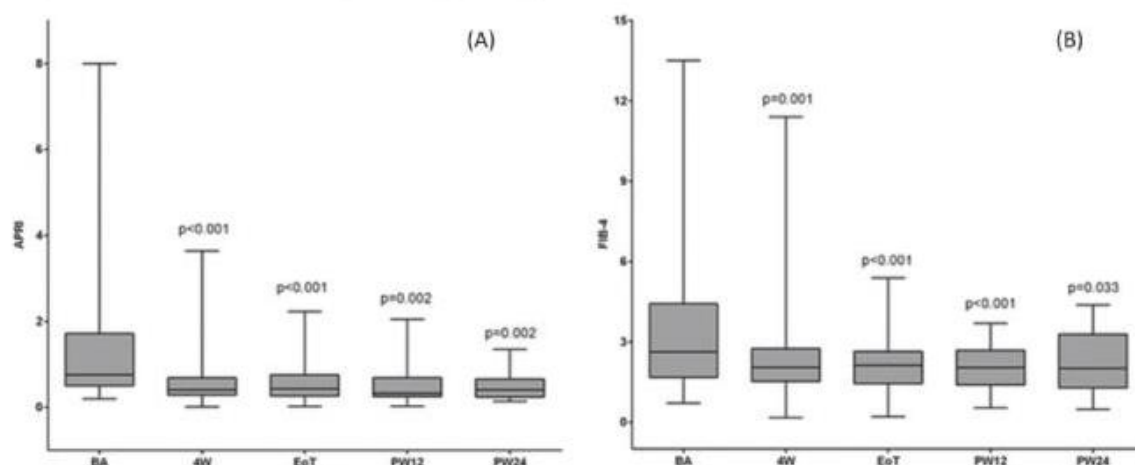


Figure 2 - APRI and FIB-4 values at different times: before treatment/baseline (BA), week 4 of treatment (4W), end of treatment (EoT), week 12 post-treatment (PW12) and week 24 post-treatment (PW24) of 84 liver transplant recipients with chronic hepatitis C, treated with sofosbuvir associated with daclatasvir or simeprevir. (A) APRI. (B) FIB-4. Comparisons made with median and percentiles (P25-P75) with respect to baseline levels.

reported in a systematic review involving 885 transplanted patients, all of the cases associated with genotype 1, with higher SVR rates ($p < 0.01$) in patients with METAVIR F0-F2 (SVR = 97%, 95% CI: 0.93-0.99), when compared to patients with F3-F4 (SVR = 85%, 95% CI: 0.79-0.90)³².

It is worth noting that some studies, including a meta-analysis, have shown a significant reduction in liver fibrosis after treatment of CHC with DAAs, both through the evaluation of fibrosis by elastography and APRI and FIB-4 scores in non-transplanted patients³⁴. These data indicate a reduction in the progression of CHC to cirrhosis and, consequently, in the number of

cases requiring liver transplantation as a consequence of HCV infection. However, there are few studies evaluating fibrosis regression after treatment of CHC with DAAs in liver-transplanted patients³⁵. Indeed, Omar et al. found a progressive improvement in the degree of liver fibrosis, as indicated by elastography and serum scores, 12 and 18 months after the treatment of CHC with DAAs in 52 liver transplant patients³⁵. The regression APRI and FIB-4 scores after treatment of CHC with DAAs, in both liver transplant and non-transplant patients, can occur by reducing serum levels of liver enzymes or by increasing the number of platelets³⁶.

Classically, patients with CHC have elevated serum levels of liver enzymes, reflecting virus-induced damage to hepatocytes, and normalization occurring during and after treatment, because of HCV elimination³⁶. In fact, in our study, this expected behaviour of serum levels of liver enzymes was observed, starting at week 4 after the beginning of DAA therapy, reflecting a reduction in the necro-inflammatory activity in the liver parenchyma accompanying the elimination of HCV. We have also observed a progressive reduction in APRI and FIB-4 scores at 12 and 24 weeks after the end of the DAA therapy. The decrease in these scores must have occurred due to a reduction in serum aminotransferase levels, and the fact that there was no significant increase in the number of platelets, during or after antiviral therapy. The low increase in the number of platelets in our study was possibly due to the absence of thrombocytopenia in our patients before starting the therapy with DAAs, as was also seen in the study by Omar *et al.*³⁵. Accordingly, in a study by Hsu *et al.*³⁶ in non-transplanted patients with CHC treated with DAAs, an increase in the number of platelets was observed only in patients who presented with thrombocytopenia before the treatment³⁶.

Side effects of DAAs, mostly mild, occurred in a quarter of our patients, with fatigue (8.3%) and headache (6.9%) being the most frequent. In only one patient, treatment was suspended due to an adverse effect (headache), coinciding with the finding of other authors claimed that DAAs have few side effects, requiring interruption of therapy in less than 2% of patients^{19,37}. The main adverse reactions reported are headache, insomnia, fatigue, nausea and diarrhoea^{38,39}. In a real life study by Bernuth *et al.*⁴⁰ including 37 liver transplanted patients with CHC treated with DAAs, few patients had anemia, which was related to the use of RBV. In only one patient, it was necessary to suspend the therapy due to the worsening of serum creatinine levels, which were already altered before the therapy with SOF + ledipasvir had started⁴⁰.

It is worth noting that the headache was the only cause of treatment interruption due to side effects in our study. The second case of failure resulted from a lack of adherence due to a lack of understanding of how to administer the therapeutic regimen. These two cases should be considered non-responders in the intention-to-treat assessment on the effectiveness of DAAs, although these patients did not complete the initial proposed therapy. These issues can occur in real life studies, and constitute limitations to treatment assistance, which can occur in medical practice.

Certainly, these failures in adherence to treatment could have been circumvented in a prospective and controlled study, highlighting the importance of clarifications and monitoring of patients before and during therapy with

DAAs. Other limitations of our study that are worth considering are the small number of patients involved and the short follow-up time after the end of the antiviral treatment. In conclusion, treatment with second-generation DAAs achieved high SVR rates in a real life study, and was well tolerated by liver-transplanted patients with HCV in the Northeast of Brazil. Future studies with larger sample sizes will be necessary to confirm these findings.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank the Liver Transplant Unit of the Oswaldo Cruz Hospital of the University of Pernambuco (UPE) and the Hepatology Service/ General Transplant Unit (UGT) of the Professor Fernando Figueira Institute of Integral Medicine (IMIP), where the study was carried out, and the development agency Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia of the State of Pernambuco (FACEPE) - Brazil.

REFERENCES

1. Medeiros T, Salviato CM, Rosário NF, Saraiva GN, Esberard EB, Almeida JR, et al. Adverse effects of direct acting antiviral-based regimens in chronic hepatitis C patients: a Brazilian experience. *Int J Clin Pharm*. 2017;39:1304-11.
2. World Health Organization. Guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: WHO; 2017.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Hepatites virais 2020. *Bol Epidemiol*. 2020;N. Esp:1-80.
4. Focaccia R, Baraldo DC, Ferraz ML, Martinelli AL, Carrilho FJ, Gonçalves FL, et al. Demographic and anthropometrical analysis and genotype distribution of chronic hepatitis C patients treated in public and private reference centers in Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2004;8:348-55.
5. Alvarado-Mora MV, Moura IM, Botelho-Lima LS, Azevedo RS, Lopes E, Carrilho FJ, et al. Distribution and molecular characterization of hepatitis C virus (HCV) genotypes in patients with chronic infection from Pernambuco State, Brazil. *Virus Res*. 2012;169:8-12.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para hepatite C e coinfeções. Brasília: Ministério da Saúde; 2017.
7. European Association for the Study of the Liver. EASL recommendations on treatment of hepatitis C 2015. *J Hepatol*. 2015;63:199-236.
8. Berenguer M. Systematic review of the treatment of established recurrent hepatitis C with pegylated interferon in combination with ribavirin. *J Hepatol*. 2008;49:274-87.

9. Butt AA, Kanwal F. Boceprevir and Telaprevir in the management of hepatitis C virus infected patients. 2012;54:96-104.
10. European Association for the Study of the Liver. EASL recommendations on treatment of hepatitis C 2018. *J Hepatol*. 2018;69:461-511.
11. Asselah T, Boyer N, Saadoun D, Martinot-Peignoux M, Marcellin P. Direct-acting antivirals for the treatment of hepatitis C virus infection: optimizing current IFN-free treatment and future perspectives. *Liver Int*. 2016;36 Suppl 1:47-57.
12. Lawitz E, Sulkowski MS, Ghalib R, Rodriguez-Torres M, Younossi ZM, Corregidor A, et al. Simeprevir plus sofosbuvir, with or without ribavirin, to treat chronic infection with hepatitis C virus genotype 1 in non-responders to pegylated interferon and ribavirin and treatment-naïve patients: the COSMOS randomised study. *Lancet*. 2014;384:1756-65.
13. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para hepatite C e coinfeções. Brasília: Ministério da Saúde; 2015.
14. Pawlotsky JM. New hepatitis C therapies: the toolbox, strategies, and challenges. *Gastroenterology*. 2014;146:1176-92.
15. Ferreira VL, Borba HH, Wiens A, Pedrosa ML, Radunz VF, Ivantes CA, et al. Effectiveness and tolerability of direct-acting antivirals for chronic hepatitis C patients in a Southern state of Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2018;22:186-92.
16. Holzmann I, Tovo CV, Minné R, Leal MP, Kliemann MP, Ubrajara C, et al. Effectiveness of chronic hepatitis C treatment with direct-acting antivirals in the public health system in Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2018;22:317-22.
17. Costa VD, Delvaux N, Brandão-Mello CE, Nunes EP, Sousa PS, Rodrigues LL, et al. Prevalence of baseline NS3 resistance-associated substitutions (RASs) on treatment with protease inhibitors in patients infected with HCV genotype 1. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2019;43:700-6.
18. Cheinquer H, Sette Jr H, Wolff FH, Araujo A, Coelho-Borges S, Soares SR, et al. Treatment of chronic HCV infection with the new direct acting antivirals (DAA): first report of a real-world experience in Southern Brazil. *Ann Hepatol*. 2017;16:727-33.
19. Mucenic M, Brandao AB, Marroni CA, Medeiros Fleck Jr A, Zanotelli ML, Kiss G, et al. Daclatasvir and Sofosbuvir with or without Ribavirin in liver transplant recipients: a single-center real-world study. *Transplant Proc*. 2018;50:769-71.
20. Araujo A, Valenzuela-Granados V, Lopes AB, Michalczuk MT, Mantovani A, Alvares-da-Silva MR. Sofosbuvir-based antiviral therapy in patients with recurrent HCV infection after liver transplant: a real-life experience. *Ann Hepatol*. 2019;18:450-5.
21. Zanaga LP, Santos AG, Ataíde EC, Boin IF, Stucchi RS. Recurrent hepatitis C treatment with direct-acting antivirals: a real-life study at a Brazilian liver transplant centre. *Braz J Med Biol Res*. 2019;52:e8519.
22. Michelin BD, Muller Z, Stelzl E, Marth E, Kessler HH. Evaluation of the Abbott RealTime HCV assay for quantitative detection of hepatitis C virus RNA. *J Clin Virol*. 2007;38:96-100.
23. Kesli R. An overview of the laboratory assay systems and reagents used in the diagnosis of Hepatitis C virus (HCV) infections. In: Abuelzein E, editor. Trends in immunolabelled and related techniques. Rijeka: InTech; 2012. p. 340-9.
24. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*. 2006;43:1317-25.
25. The French METAVIR Cooperative Study Group. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 1994;20:15-20.
26. Wai C, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38:518-26.
27. Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para hepatite C e coinfeções. Brasília: Ministério da Saúde; 2019.
28. Coilly A, Fougere-Leurent C, de Ledinghen V, Housset-Debry P, Duvoux C, Di Martino V, et al. Multicentre experience using daclatasvir and sofosbuvir to treat hepatitis C recurrence: the ANRS CUPILT study. *J Hepatol*. 2016;65:711-8.
29. Poordad F, Schiff ER, Vierling JM, Landis C, Fontana RJ, Yang R, et al. Daclatasvir with Sofosbuvir and Ribavirin for Hepatitis C virus infection with advanced cirrhosis or post-liver transplantation recurrence. *Hepatology*. 2016;63:1493-505.
30. Gutierrez JA, Carrion AF, Avalos D, O'Brien C, Bhamidimarri KR, Peyton A. Sofosbuvir and Simeprevir for treatment of hepatitis C virus infection in liver transplant recipients. *Liver Transpl*. 2015;21:823-30.
31. Pungpapong S, Aql B, Leise M, Werner KT, Murphy JL, Henry TM, et al. Multicenter experience using Simeprevir and Sofosbuvir with or without Ribavirin to treat Hepatitis C genotype 1 after liver transplant. *Hepatology*. 2015;61:1880-6.
32. Liu J, Ma B, Cao W, Li M, Bramer WM, Peppelenbosch MP, et al. Direct-acting antiviral agents for liver transplant recipients with recurrent genotype 1 hepatitis C virus infection: systematic review and meta-analysis. *Transpl Infect Dis*. 2019;21:e13047.
33. Lobato CM, Codes L, Silva GF, Souza AF, Coelho HS, Pedrosa ML, et al. Direct antiviral therapy for the treatment of hepatitis C: a real-world study from Brazil. *Ann Hepatol*. 2019;18:849-54.
34. Singh S, Facciorusso A, Loomba R, Falck-Ytter YT. Magnitude and kinetics of decrease in liver stiffness after anti-viral therapy in patients with chronic Hepatitis C: a systematic review and meta-analysis. *Siddharth. Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018;16:27-38.

35. Omar H, Said M, Eletreby R, Mehrez M, Bassam M, Abdellatif Z, et al. Longitudinal assessment of hepatic fibrosis in responders to direct-acting antivirals for recurrent hepatitis C after liver transplantation using noninvasive methods. *Clin Transplant*. 2018;32:e13334.
36. Hsu WF, Lai HC, Su WP, Lin CH, Chuang PH, Chen SH, et al. Rapid decline of noninvasive fibrosis index values in patients with hepatitis C receiving treatment with direct-acting antiviral agents. *BMC Gastroenterol*. 2019;19:63.
37. Elfeki MA, Mrad RA, Esfeh JM, Zein NN, Eghtesad B, Zervos X, et al. Sofosbuvir/Ledipasvir without Ribavirin achieved high sustained virologic response for hepatitis C recurrence after liver transplantation: two-center experience. *Transplantation*. 2017;101:996-1000.
38. Noguera-López F, López Garrido A, Ortega Suazo EJ, Vellido Calles F, Valverde López F, Espinosa Aguilar MD. Therapy with direct-acting antiviral agents for hepatitis C in liver transplant recipients. *Transplant Proc*. 2018;50:631-3.
39. Welzel TM, Yang M, Sajeev G, Chen YJ, Pinsky B, Bao Y, et al. Assessing patient preferences for treatment decisions for new direct-acting antiviral (DAA) therapies for chronic hepatitis C virus infections. *Adv Ther*. 2019;36:2475-86.
40. Bernuth S, Grimm D, Vollmar J, Darstein F, Mittler J, Heise M, et al. Efficacy and safety of direct-acting antiviral therapy in previous hard-to-treat patients with recurrent hepatitis C virus infection after liver transplantation: a real-world cohort. *Drug Des Devel Ther*. 2017;11:2131-8.

APÊNDICE D – VERSÃO DO ARTIGO 2 EM INGLÊS

Evolution of APRI and FIB-4 indices, aminotransferases, and platelets counts after virological cure of hepatitis C with new direct-acting antivirals

Running title: Evolution of APRI and FIB-4 indices new direct-acting antivirals

ABSTRACT

OBJECTIVES: We evaluated the evolution of aspartate (AST) and alanine aminotransferases (ALT), platelet counts, and AST-to-platelet ratio (APRI) and fibrosis-4 (FIB-4) indices in patients with chronic hepatitis C who had a sustained virologic response (SVR) after treatment with second-generation direct-acting antivirals (DAAs). **METHODS:** This retrospective observational study included 137 adult patients with chronic hepatitis C treated with DAAs. Demographic, clinical, and laboratory data (AST, ALT, platelet, anti-HCV, and HCV RNA levels) were collected from medical records. APRI and FIB-4 indices were calculated pre-treatment and at 12 and 24 weeks post-treatment for patients who achieved SVR. **RESULTS:** The treatment proved effective, registering an SVR rate of 97.8%. Among the 134 patients with SVR, ALT and AST levels reduced ($p < 0.001$), while platelet counts showed no significant difference, 12 and 24 weeks post-treatment. Eighty-three and 81 patients were included in the assessment of APRI and FIB-4, respectively. After 24 weeks of treatment, the proportion of patients with $APRI > 1.5$ decreased from 31.3% to 3.6% ($p < 0.001$), while the proportion of patients with $APRI < 0.5$ increased from 22.9% to 63.9% ($p < 0.001$). There was a reduction in the proportion of patients with $FIB > 3.25$ from 38.3% to 21% ($p = 0.019$). **CONCLUSION:** There was an early reduction of APRI and FIB-4 indices, probably due to lowered AST/ALT transaminase levels after SVR in patients treated with second-generation DAAs. Longer follow-up is required for the evaluation of hepatic fibrosis regression.

KEYWORDS: Chronic hepatitis C; Direct-Action Antivirals; APRI; FIB-4.

INTRODUCTION

Chronic infection of hepatitis C virus (HCV) is a systemic disease that causes liver fibrosis, which can lead to the development of cirrhosis and, subsequently, portal hypertension, liver failure, hepatocellular carcinoma (HCC), the need for liver transplantation, and death (1). In Brazil, it is estimated that 1.5–1.7 million individuals are infected with the hepatitis C virus (HCV), with a detection rate of 10.8 per 100,000 inhabitants in 2020 (2).

Direct-acting antivirals (DAAs) represent an important advancement in the treatment of HCV. Second-generation DAAs are safe and well-tolerated. These are administered in a short-term, all-oral treatment regimen and produce sustained virologic response (SVR) rates that exceed 95% (3,4). The interruption of viral replication after SVR appears to be associated with a decreased risk of liver disease progression due to the reduction in hepatic inflammation, which can result in the regression of fibrosis (5,6).

In Brazil, the Ministry of Health commenced providing DAAs for hepatitis C treatment in 2015 through the Unified Health System (SUS). The therapeutic regimens were based on the combination of sofosbuvir with other antivirals according to the HCV genotype and stage of liver fibrosis (PCDT 2015) (7).

The liver fibrosis stage assessment is essential for choosing the treatment regimen, follow-up protocol, and post-treatment prognosis (2). Several indirect methods can be reliably used for the staging of liver fibrosis, through imaging techniques such as ultrasound hepatic elastography (8) or serological biomarkers such as the fibrosis index-4 (FIB-4) and the aspartate aminotransferase (AST)-to-platelet ratio index (APRI) (9).

Few studies have specifically evaluated the serological indices of hepatic fibrosis after treatment with DAAs (10-15). With increasing numbers of patients recovering from HCV follow-up studies involving these indices may have an impact on evaluating the evolution of liver damage after antiviral therapy (15,16).

In this context, this study aimed to evaluate the evolution of AST and ALT markers, platelet counts, and APRI and FIB-4 indices in patients with chronic hepatitis C who achieved SVR after treatment with second-generation DAAs, through an observational study carried out at a referral centre in Northeast Brazil.

PATIENTS AND METHODS

Study Design

This was a longitudinal observational study with retrospective and prospective components that included individuals diagnosed with HCV and treated with second-generation DAAs.

Patients

Adult patients (>18 years old) with chronic HCV infection who underwent therapy with second-generation DAAs at the Hepatology Outpatient Clinic of Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Pernambuco, Brazil, from December 2015 to October 2020, were included. Those patients who achieved SVR were followed up for an additional six months to one year.

Chronic HCV infection was defined by the presence of anti-HCV antibodies for > six months and detectable HCV RNA in the serum. Treatment-naïve and -experienced patients who poorly responded to treatment with pegylated interferon (PEG-IFN) and/or first-generation DAAs (boceprevir or telaprevir) with or without ribavirin (RBV) were included. Pregnant women and patients with no information on pre- or post-treatment viral loads were excluded. Those patients without information on their aminotransferase levels and pre- and post-treatment platelet counts were excluded from the analysis of the APRI and FIB-4 indices.

Clinical and laboratory data were collected in a form that included demographic data and clinical laboratory characteristics collected during medical consultations or through analysis of medical records.

This study was approved by the Ethics Committee in Research Involving Human Beings of the Health Sciences Center of the Federal University of Pernambuco (CCS-UFPE), Recife, Brazil, under protocol number 2,383,189/2018. All patients who participated in the study signed an informed consent form (ICF).

HCV treatment regimens

The choice of DAA treatment regimen was based on medical criteria, in accordance with the guidelines proposed by the Clinical Protocols and Therapeutic Guidelines for Hepatitis C and Co-infections (PCDT) of 2015, 2017 or 2019 (7,17,18) made available by the Ministry of Health, Brazil, based on genotype, previous

experimentation with DAAs, and the fibrosis stage. All treatment regimens were administered for 12 or 24 weeks.

In 2015, the use of sofosbuvir (400 mg) was approved and was used in combination with daclatasvir (60 mg) or simeprevir (150 mg) (7). In 2017 and 2019, the PCDT was updated, which included new subgroups of patients and medications, such as ombitasvir/veruprevir 75 mg/ritonavir 50 mg/dasabuvir 250 mg (OMB/PTV/RTV/DSV), sofosbuvir 400 mg/velpatasvir 100 mg (SOF/VEL) and ledipasvir 90 mg/sofosbuvir 400 mg (LDV/SOF) (17)(18). Treatment with RBV was combined with DAAs in patients with cirrhosis at the discretion of the attending physician and adjusted for weight (1,000 mg/day for patients < 75 kg and 1,250 mg/day for patients ≥ 75 kg).

Clinical and laboratory evaluation: determination of APRI and FIB-4

Clinical evaluation and laboratory analysis were performed during the following periods: up to 3 months before the start of treatment, at the end of treatment (FDT), and 12 or 24 weeks post-treatment (SVR12/24).

Laboratory analysis included platelet counts, AST and ALT levels. Blood samples were collected after fasting by peripheral venipuncture. Laboratory tests were performed using automated methods.

The stage of liver fibrosis was assessed using the APRI and FIB-4 serum indices, as described by Wai et al. (19) and Sterling et al. (20). Liver fibrosis staging was determined by the upper and lower cut-off points of the scores, with stratification into three groups. Patients were classified as having absent or mild fibrosis (APRI < 0.5), grey zone (APRI between 0.5 and 1.5), and advanced fibrosis (APRI > 1.5). Based on the FIB-4 indices, patients were classified as absent to mild fibrosis (FIB-4 < 1.45), grey zone (FIB-4 between 1.45–3.25), and advanced fibrosis (FIB-4 > 3.25).

HCV-RNA was quantified before treatment, FDT, and at SVR12/24 by real-time PCR (qPCR) using the real-time Abbott HCV platform (Abbott Diagnostics®, USA), covering a quantification range from 12–100 million IU/ml, using the m2000 Real-Time System (Abbott®) equipment. Virologic failure was classified as non-response (HCV-RNA detectable at the end of treatment) or relapse (HCV-RNA not quantifiable at the end of treatment, but quantifiable 12 or 24 weeks post-treatment).

Statistical analysis

Clinical and laboratory data were analysed using SPSS Statistics, v.25 for Windows (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) and GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA) software.

Qualitative variables were described as absolute and relative frequencies, and 95% confidence intervals (CI). Quantitative data were analysed by mean and standard deviation when they presented a normal distribution, as verified by the Shapiro-Wilk test, or by median and 25th and 75th percentiles (P25–P75) when the observed distribution was non-parametric.

Chi-squared or Fisher's exact tests were used to compare proportions between the two groups, depending on the sample number per stratum analysed. Normal distributions between two independent groups were compared using Student's *t*-test, while for non-parametric variables, the Mann-Whitney *U* test was used.

Comparisons of biochemical characteristics and fibrosis stage pre-treatment and 12 and 24 weeks post-treatment were evaluated using the Wilcoxon signed-rank test for data with non-parametric distributions. Differences were considered statistically significant at $P < 0.05$.

RESULTS

Patients

Clinical and demographic characteristics of patients included in the study are shown in Table 1. A total of 243 patients with HCV were evaluated between December 2015 and October 2020. Of these, 106 patients were excluded due to the lack of information on the genotype, viral load, pre- and post-treatment aminotransferase levels, or platelet counts, or co-infection with human immunodeficiency virus (HIV).

A total of 137 patients were included, with a mean age of 62 (± 12) years, of which 70 patients (51.1%) were women. The most frequent genotypes were genotype 1 (79.6%) and 3 (18.2%). The main comorbidities were arterial hypertension (65%) and diabetes mellitus (26.3%). Six patients had positive markers for previous hepatitis B infection (anti-HBc and anti-HBs). None of the patients had a history of HCC.

Table 1. Demographic and clinical characteristics of 137 patients with chronic hepatitis C virus infection treated with second-generation direct-acting antivirals, Recife/PE, 2015–2020.

Characteristics	N=137	
Sex, n (%)		
Male	67	(48.9)
Female	70	(51.1)
Age, years[†]	62	(±12)
Ethnicity, n (%)		
White	79	(57.7)
Brown	42	(30.7)
Black	11	(8.0)
No information	5	(3.6)
Comorbidity, n (%)		
Hypertension	90	(65.7)
Diabetes	36	(26.3)
Previous hepatitis B	6	(4.4)
HIV infection	2	(1.5)
Genotype, n (%)		
1	109	(79.6)
2	2	(1.5)
2 e 3	1	(0.7)
3	25	(18.2)

[†]Mean ± standard deviation

Treatment with second-generation DAAs

Among the 137 patients, 48 (35.0%) were previously treated for HCV infection; 12 (8.8%) were treated with IFN ± RBV, 34 (34.8%) received PEG-IFN ± RBV, and only 2 (1.5%) were treated with a first-generation protease inhibitor (boceprevir). Among the treatment-experienced patients, 32 (67%) were non-responders, 9 (19%) were relapsing, and 7 (14%) were intolerant (Table 2).

The most frequently used second-generation DAA treatment regimens were SOF + daclatasvir (CVD) ± RBV in 52 (38%), SOF + SMV ± RBV in 51 (37.2%), and

OMB + PTV + RTV + DSV± RBV in 22 patients (16.1%). Of the 137 patients, 134 (97.8%) achieved SVR after treatment completion, and only three had virological failure.

Table 2. Characteristics of the previous and current treatment of 137 patients with chronic hepatitis C virus infection treated with second-generation antivirals, Recife/PE, 2015–2020.

Characteristic	N=137	
Previous treatment (experienced), n (%)		
Yes	48	(35.0)
No	89	(64.9)
Previous treatment regimen, n (%)		
IFN	2	(1.5)
IFN+RBV	10	(7.3)
Peg-IFN	1	(0.7)
Peg-IFN+RBV	33	(24.1)
PegINF + RBV + Boceprevir	2	(1.5)
Current pre-treatment HCV-RNA (log10 IU/mL), mean ± standard deviation	5,92	(±0.86)
Current treatment regimen, n (%)		
SOF+SMV±RBV	51	(37.2)
SOF+DCV±RBV	52	(38.0)
SOF+LDP±RBV	9	(6.6)
SOF+VLP±RBV	3	(2.1)
OMB+PTV+RTV+DSV±RBV	22	(16.1)
Treatment weeks, n (%)		
12 weeks	125	(91.2)
24 weeks	12	(8.8)
SVR rate, n (%)	134	(97.8)

DCV, daclatasvir; DSV, dasabuvir; IFN, interferon; LDP, ledipasvir; OMB, ombitasvir; Peg-IFN, pegylated interferon; PTV, paritaprevir; RBV, ribavirin; RTV, ritonavir; SMV, simeprevir; SOF, sofosbuvir; SVR, sustained virological response; VLP, velpatasvir

Biochemical characteristics, APRI and FIB-4 indices

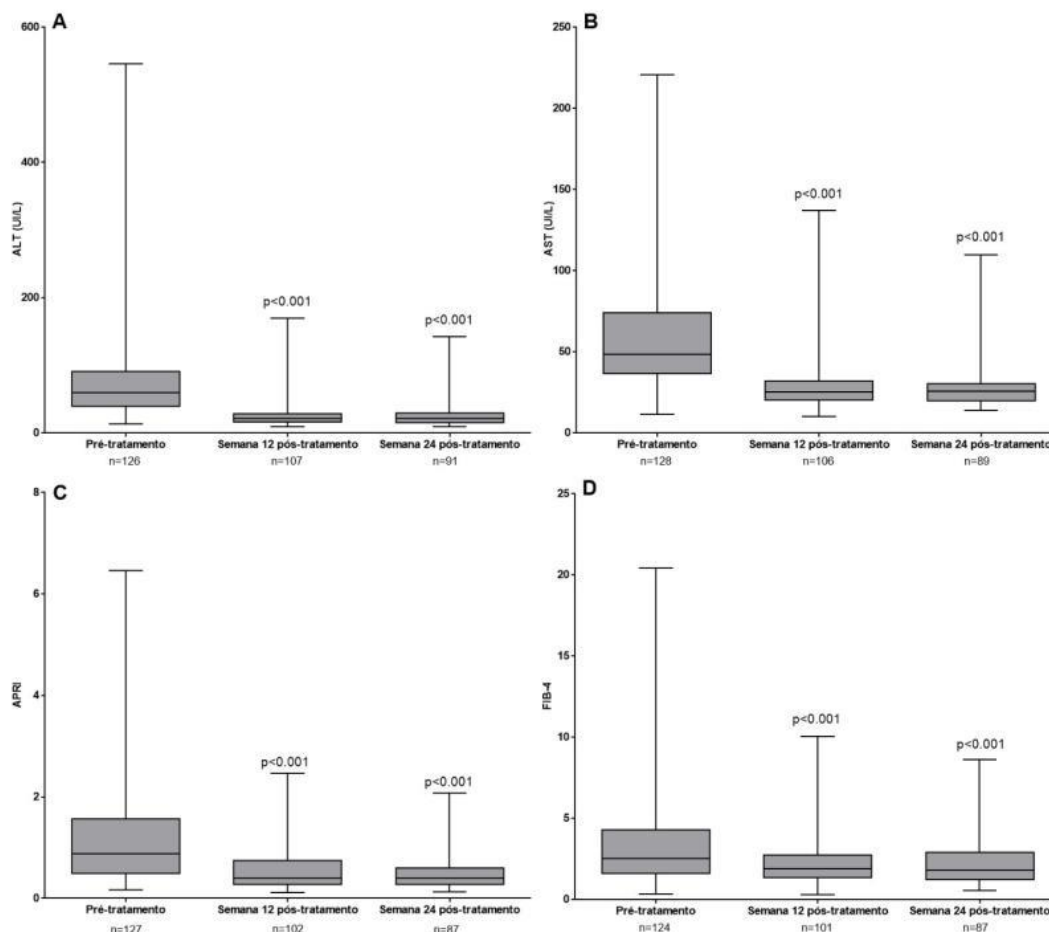
Biochemical characteristics and serological indices were evaluated in patients who achieved SVR. There was a significant reduction in ALT and AST aminotransferase levels ($p < 0.001$) at 12 and 24 weeks post-treatment (FDT). Platelet counts showed no significant difference before and after 12- and 24-weeks FDT. The median APRI showed a significant reduction post-treatment when compared to the value pre-treatment (pre-treatment 0.88 (0.49–1.58) × 12-week FDT 0.39 (0.28–0.75); $P < 0.001$; 24-week FDT 0.39 (0.28–0.61); $P < 0.001$). A similar significant reduction occurred with median FIB-4 (pre-treatment 2.51 (1.59–4.32) × 12-week FDT 1.91 (1.35–2.73); $P < 0.001$; and 24 weeks FDT 1.88 (1.21–3.01); $P < 0.001$, as seen in Table 3 and Figure 1.

Table 3. Biochemical characteristics of patients with hepatitis C virus infection before versus after 12 and 24 weeks of treatment with second-generation direct-acting antivirals, Recife/PE, 2015–2020.

Character istic	Before treatment			12 weeks post-treatment			24 weeks post-treatment			p1*	p2*
	n	Med	P ₂₅ -P ₇₅	n	Med	P ₂₅ -P ₇₅	n	Med	P ₂₅ -P ₇₅		
AST (UI/L)	128	48,4	(36,3-74,5)	1106	225,2	(20-32,5)	89	25,8	(19,9-30)	<0,001	<0,001
ALT (UI/L)	126	59,5	(39,1-93)	1107	221,1	(16-29)	91	21	(15,9-29)	<0,001	<0,001
Plaquetas (x10 ³ /mL)	131	168	(135-212)	1107	1173	(152-209)	99	182	(134-213)	<0,106	0,265
APRI	127	0,88	(0,49-1,58)	1102	00,39	(0,28-0,75)	87	0,39	(0,28-0,61)	<0,001	<0,001
FIB-4	124	2,51	(1,59-4,32)	1101	11,91	(1,35-2,73)	87	1,88	(1,21-3,01)	<0,001	<0,001

Values in Median (P₂₅-P₇₅); *Wilcoxon Signed Rank Test. p-value of the analysis using the stratum “before treatment” as reference and comparing with “Week 12 post-treatment” (p1) and “Week 24 post-treatment” (p2). ALT: alanine aminotransferase; APRI: aspartate aminotransferase ratio on platelets; AST: aspartate aminotransferase; FIB-4: fibrosis index-4;

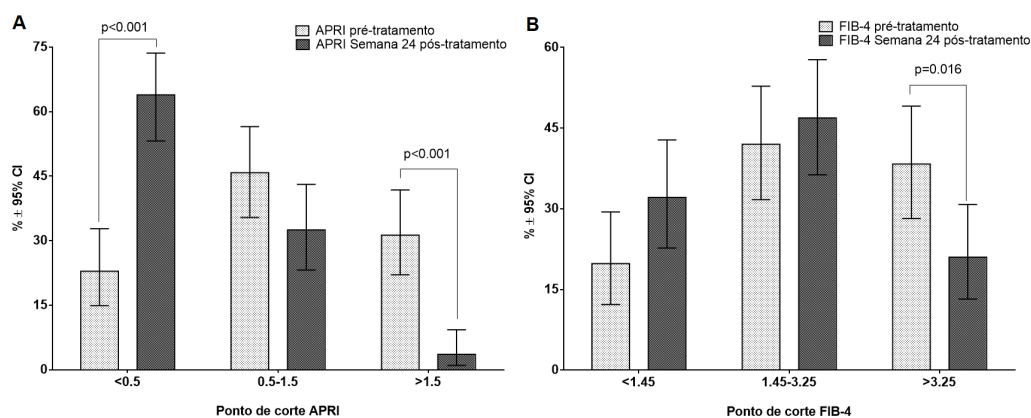
Graph 1. Aminotransferases and APRI and FIB-4 scores in patients with hepatitis C viral infection before and after 12 and 24 weeks of treatment with second-generation direct-acting antivirals, Recife/PE, 2015–2020.



Median values (P25–P75). p: Wilcoxon signed rank test.

In 83 of 134 patients (61.9%) who had SVR, APRI was calculated before and after 24 weeks of treatment, while in 81 (60.4%), FIB-4 was calculated at the same intervals. The proportion of patients with APRI >1.5 decreased from 31.3% to 3.6%, $p < 0.001$ after 24 weeks of treatment, while the proportion of patients with APRI <0.5 increased from 22.9% to 63.9%, $p < 0.001$. Regarding FIB-4, there was a reduction in the proportion of patients with FIB > 3.25 from 38.3% to 21%, $p = 0.019$ (Graph 2).

Graph 2. Comparison of liver fibrosis stage by APRI (n=83) and FIB-4 (n=81) scores before versus after 24 weeks of treatment with second-generation direct-acting antivirals in patients with chronic liver infection. Hepatitis C virus treated, Recife/PE, 2015–2020.



Values are shown as frequency and 95% confidence intervals. p: Chi-square test comparing two proportions

DISCUSSION

In this study, 97.8% of patients with HCV treated with second-generation DAAs achieved SVR, while only three patients experienced virological failure. The median ALT and AST aminotransferase levels were significantly reduced at the 12th-week post-treatment, which persisted until the 24th week. Similarly, 24 weeks post-treatment, there was a reduction in the proportion of patients with APRI values > 1.5 and those with FIB-4 values > 3.25. Although these indices were created to estimate the fibrosis stage, this follow-up time is too short to speculate about the fibrosis regression and whether the observed reduction in the indices is probably secondary to the improvement of the inflammatory component.

The advent of DAA therapy has had an important and positive impact on the prognosis of patients with HCV(5,6). These regimens have shown high SVR rates, generally > 95% (3,4), similar to those achieved in the present study. SVR can be achieved even in patients who were previously unresponsive to therapy, such as those with cirrhosis and undergoing INF therapy (21-24).

Several factors affect the prognosis of chronic liver disease, including inflammation and liver fibrosis. Inflammation triggers the process of fibrosis, which results in structural changes and the loss of liver function (25). Assessment of liver

fibrosis in patients with HCV is essential to guide therapeutic decisions and determine the prognosis of liver disease (26).

Biopsy is still considered the 'gold standard' for evaluating liver fibrosis; however, it is an invasive technique with complications such as pain and bleeding, thereby limiting its use (27). Therefore, it is no longer the first choice for assessing fibrosis before and after HCV treatment. Non-invasive methods with biomarkers and imaging techniques, such as hepatic elastography by ultrasound, have been used in HCC to replace liver biopsy (8,9). APRI and FIB-4 serological indices are widely used in clinical practice, as they are not patented and easily accessible. The APRI calculation includes AST and platelets levels, while the FIB-4 calculation includes age, ALT, AST, and platelets (16,17).

Most studies evaluating liver fibrosis after HCV treatment with DAAs use elastography, APRI, and FIB-4 indices (10-13). Lee et al. (13) showed a significant decrease in APRI and FIB-4. Two-dimensional shear wave elastography (2D-SWE) in 68 patients after 12 weeks of DAAs treatment showed that the median APRI decreased from 0.701 to 0.328 ($P < 0.0001$), and the median FIB-4 decreased from 2.355 to 1.860 ($P < 0.0001$) (17). Bachofner et al. (10) obtained similar results, evaluating fibrosis through APRI and FIB-4 indices and transient elastography (TE) in 392 patients who achieved SVR after DAA therapy. There was a 32.4% reduction in TE ($P < 0.001$) and the median FIB-4 and APRI values decreased from 2.54 (interquartile range [IQR] 1.65–4.43) and 1.10 (IQR 0.65–2.43) to 1.80 (IQR 1.23–2.84, $P < 0.001$) and 0.43 (IQR 0.3–0.79, $P < 0.001$), respectively.

Lu et al. (14) showed that SVR was related to an improvement or significant decrease in FIB-4 and APRI scores, evaluated over 10 years in a large observational study of 4,731 patients with HCV in the United States.

FIB-4 values were lower among patients who achieved SVR; these values continued to decrease and remained stable over 10 years compared to those obtained from patients with no treatment or failed treatments ($P < 0.001$). These results were similar in a sensitivity analysis that replaced FIB-4 with APRI as a marker of fibrosis.

Wong et al. (15) evaluated changes in AST, ALT, platelet counts, and FIB-4 from pre-treatment and annually up to 4 years after HCV therapy among 2,691 patients in California, USA. All disease severity markers showed improvements post-treatment with DAAs. These results coincide with the findings of Kang et al. (28), who

carried out a real-world study in China, in which TE, APRI, and FIB-4 were evaluated in 102 patients pre- and post-treatment, and at 12, 24, and 48 weeks post-treatment. Fifty-one patients had mild to moderate fibrosis (F1/F2), and 51 had advanced fibrosis (F3/F4). These results revealed a significant decrease in APRI and FIB-4 scores (0.64 [0.39–0.21] vs 0.35 [0.26–0.52], $P < 0.001$; 2.53 [1.30–3.91] vs 1.87 [0.89–2.5], $P < 0.001$) and TE after 12 weeks of treatment, and were higher in patients with advanced F3/F4 fibrosis.

It is important to emphasise that the reduction in APRI and FIB-4 indices in patients with HCV after DAAs treatment may be related to a decrease in serum liver enzyme levels and/or an increase in the abundance of platelets (10,11). With treatment of HCV and elimination of HCV, there is a reduction of inflammatory activity and normalisation of liver enzymes (11,29,30). In fact, in our study, the main finding was the reduction in serum levels of aminotransferases observed after SVR, which were maintained at normal values after 12 and 24 weeks. Similarly, reductions in APRI and FIB-4 were observed, which maintained similar median values for 24 weeks post-DAA therapy. This reduction was mainly due to the reduction in aminotransferase levels since the number of platelets did not increase significantly after antiviral therapy, which may have occurred due to the relatively short post-treatment follow-up period.

Our data suggested that the critical changes in transaminase levels and the APRI and FIB-4 indices occurred in the 12th-week post-treatment and were similar to that of the 24th week. The median APRI value was 0.88 pre-treatment, reduced to 0.39 after 12 weeks ($P < 0.001$) and was maintained at 0.39 at 24 weeks post-treatment ($P < 0.001$). The initial median FIB-4 value was 2.51, reduced to 1.91 at week 12 ($P < 0.001$) and 1.88 at week 24 post-treatment ($P < 0.001$).

Our results showed a significant improvement in FIB-4 and APRI scores occurred even in patients with more advanced stratifications of fibrosis. The fibrosis significantly reduced from 31.3% to 3.6% and in advanced fibrosis of 38.3 for 21% of patients after 24 weeks of treatment. Likewise, Elsharkawy et al. (26) showed a significant reduction in ALT and AST levels, in addition to an increase in platelet counts, which in turn resulted in a significant improvement in FIB-4 and APRI indices 12 weeks post-operatively.

CONCLUSIONS

Taken together, our data demonstrated a reduction in APRI and FIB-4 indices and indicated a reduction in necro-inflammatory activity after SVR 24 weeks after the end of treatment with second-generation DAAs. While the follow-up time was sufficient to demonstrate significant results, more patients and a longer follow-up time will be necessary to define whether the observed improvement in such indices may indicate the regression of hepatic fibrosis.

REFERENCES

- 1- Bruden DJT, McMahon BJ, Townshend-Bulson L, Gounder P, Gove J, Homan C, et al. Risk of end-stage liver disease, hepatocellular carcinoma, and liver-related death by fibrosis stage in the hepatitis C Alaska Cohort. *Hepatology*. 2017; 66: 37-45.
- 2- Ministério da Saúde (Brasil). Secretaria de Vigilância em Saúde. Hepatites virais 2020. *Bol. Epidemiol.* 2020; N. Especial: 1-80.
- 3- Asselah T, Boyer N, Saadoun D, Martinot-Peignoux M, Marcellin P. Direct-acting antivirals for the treatment of hepatitis C virus infection: Optimizing current IFN-free treatment and future perspectives. *Liver Int.* 2016; (36): 47–57.
- 4- Sulkowski MS, Gardiner DF, Rodriguez-Torres M, Reddy KR, Hassanein T, Jacobson I, et al. Daclatasvir plus sofosbuvir for previously treated or untreated chronic HCV infection. *N Engl J Med.* 2014; 370(3):211–21.
- 5- Knop V, Hoppe D, Welzel T, Vermehren J, Herrmann E, Vermehren A, et al. Regression of fibrosis and portal hypertension in HCV-associated cirrhosis and sustained virologic response after interferon-free antiviral therapy. *J Viral Hepat.* 2016; 23(12): 994-1002.
- 6- Laursen TL, Siggaard CB, Kazankov K, Sandahl TD, Møller HJ, Tarp B, et al. Time-dependent improvement of liver inflammation, fibrosis and metabolic liver function after successful direct-acting antiviral therapy of chronic hepatitis C. *J Viral Hepat.* 2020; 27(1): 28–35.
- 7- Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais (BR). Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para hepatite C e coinfeções. Brasília, DF; 2015.

8- Barr RG, Wilson SR, Rubens D, Garcia-Tsao G, Ferraioli G. Update to the Society of Radiologists in Ultrasound Liver Elastography Consensus Statement. *Radiology*. 2020; 296 (2): 263–74.

9-Lin ZH, Xin YN, Dong QJ, Wang Q, Jiang XJ, Zhan SH, et al. Performance of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the staging of hepatitis C-related fibrosis: an updated meta-analysis. *Hepatology*. 2011; (53): 726–736.

10-Bachofner JA, Valli PV, Kröger A, Bergamin I, Künzler P, Baserga A, et al. JC. Direct antiviral agent treatment of chronic hepatitis C results in rapid regression of transient elastography and fibrosis markers fibrosis-4 score and aspartate aminotransferase-platelet ratio index. *Liver Int*. 2017; 37(3): 369-376.7

11- Hsu WF, Lai HC, Su WP, Lin CH, Chuang PH, Chen SH, et al. Rapid decline of noninvasive fibrosis index values in patients with hepatitis C receiving treatment with direct-acting antiviral agents. *BMC Gastroenterol*. 2019; 19 (1):1–9.

12-Huang R, Rao H, Yang M, Gao Y, Wang J, Jin Q, et al. Noninvasive Measurements Predict Liver Fibrosis Well in Hepatitis C Virus Patients After Direct-Acting Antiviral Therapy. *Dig Dis Sci*. 2020; 65(5): 1491-1500.

13-Lee SH, Shin HP, Lee JI. Real-world single-center experience with direct-acting antivirals for improvement of the liver fibrosis after chronic hepatitis C treatment. *Antivir Chem Chemother*. 2020; (28): 204.

14- Lu M, Li J, Zhang T, et al. Serum biomarkers indicate long-term reduction in liver fibrosis in patients with sustained virologic response to treatment for HCV infection. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2016; 14(7): 1044-1055.

15-Wong RJ, Jain MK, Therapondos G, et al. Sustained Improvements in Markers of Liver Disease Severity After Hepatitis C Treatment. *J Clin Exp Hepatol*. 2020;10(2):114-123.

16-Younossi Z.M., Stepanova M., Gordon S. Patient-reported outcomes following treatment of chronic hepatitis C virus infection with sofosbuvir and velpatasvir, with or without voxilaprevir. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018;16:567–574.

17-Ministério da Saúde (Brasil). Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções. 2017; 48(24): 65.

18-Ministério da Saúde (Brasil). Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. 2019; (1): 138.

19-Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003; (38): 518–526.

20-Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa Mc, Montaner J, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*. 2006; (43): 1317–1325.

21- Reddy KR, Lim JK, Kuo A, Di Bisceglie AM, Galati JS, Morelli G, et al. HCV-TARGET Study Group. All-oral direct-acting antiviral therapy in HCV-advanced liver disease is effective in real-world practice: observations through HCV-TARGET database. *AlimentPharmacolThe.r*. 2017; (45): 115-126.

22- Silva IPL, Batista AD, Lopes EP, Filgueira NA, Carvalho BT, Santos JC, et al. A real-life study on the impact of direct-acting antivirals in the treatment of chronic hepatitis C in liver transplant recipients at two university centers in Northeastern Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2021; (29): 63-6.

23-Schwabl P, Mandorfer M, Steiner S, Scheiner B, Chromy D, Herac M, et al. Interferonfree regimens improve portal hypertension and histological necroinflammation in HIV/HCV patients with advanced liver disease. *Aliment PharmacolTher*. 2017; (45): 139-149

24- Backus LI, Belperio PS, Shahoumian TA, Mole LA. Directly acting antiviral sustained virological response: impact on mortality in patients without advanced liver disease. *Hepatology*. 2018; (68) :827–838.

25-Marcellin P, Asselah T, Boyer N. Fibrosis and disease progression in hepatitis C. *Hepatology*. 2002; (36): 47-56.

26-Elsharkawy A, Alem SA, Fouad R, El Raziky M, EL Akeel W, Abdo M, et al. Changes in liver stiffness measurements and fibrosis scores following sofosbuvir based treatment regimens without interferon. *J Gastroenterol Hepatol*. 2017; (32): 1624-1630.

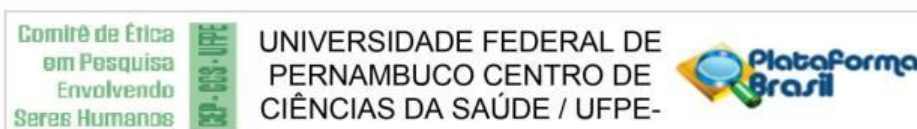
27-Cholongitas E, Senzolo M, Standish R, Marelli L, Quaglia A, Patch D, et al. A systematic review of the quality of liver biopsy specimens. *Am J Clin Pathol*. 2006; (125): 710-721.

28-Kang Q, Xu J, Luo H, Tan N, Chen H, Cheng R, et al. Direct antiviral agent treatment leads to rapid and significant fibrosis regression after HCV eradication. *Journal of Viral Hepatitis*. 2021; (28): 1284-92.

29-Tada T., Kumada T., Toyoda H., Mizuno K., Sone Y, Kataoka S, et al. Improvement of liver stiffness in patients with hepatitis C virus infection who received direct-acting antiviral therapy and achieved a sustained virological response. *J GastroenterolHepatol*. 2017; (32): 1982-1988.

30-Omar H, Said M, Eletreby R, Mehrez M, Bassam M, Abdellatif Z, et al. Longitudinal assessment of hepatic fibrosis in responders to direct-acting antivirals for recurrent hepatitis C after liver transplantation using noninvasive methods. *Clin Transplant*. 2018; 32(8): 0–2.

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UFPE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Dinâmica da Carga Viral, em Transplantados de Fígado com Infecção pelo Vírus da Hepatite C, Submetidos ao Tratamento Com os Novos Antivirais de Ação Direta (DAAs)

Pesquisador: Heloisa Ramos Lacerda de Melo

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 55879116.8.0000.5208

Instituição Proponente: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.541.324

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de doutorado apresentado ao programa de pós graduação em Medicina Tropical, pela aluna Isabella Patrícia Lima Silva, sob a orientação da Profª Drª Heloísa Ramos.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral: Avaliar a cinética da carga viral durante e pós-tratamento com os novos antivirais de ação direta (DAA) em uma coorte de pacientes transplantados de fígado com infecção pelo vírus da Hepatite C (HCV).

Objetivos específicos:

- 1.Descrever a cinética da carga viral do vírus da Hepatite C,utilizando testes HCV-RNA quantitativo, pelo método de PCR (Polimerase Chain Reaction) em pacientes transplantados de fígado e submetidos ao tratamento com as DAAs;
- 2.Descrever o tempo necessário para a negatização da carga viral do VHC entre pacientes transplantados de fígado e submetidos ao tratamento com as DAAs;
- 3.Determinar os fatores relacionados a variações na cinética viral entre pacientes transplantados de fígado e submetidos ao tratamento com as DAAs;
- 4.Detectar os genótipos e subgenótipos do HCV, através de testes moleculares de amplificação de ácidos nucleicos;

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO CENTRO DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-



Continuação do Parecer: 1.541.324

5. Comparar a cinética da carga viral entre pacientes transplantados com pacientes não transplantados fígado e também submetidos ao tratamento com as DAAs;
6. Comparar o tempo de clearance do HCV entre transplantados e não transplantados hepáticos que forem submetidos ao tratamento com as DAAs;
7. Determinar a proporção de pacientes com carga viral indetectável ao fim do tratamento com as DAAs entre transplantados de fígado e não transplantados;
8. Elaborar curva da cinética viral em pacientes transplantados de fígado com HCV sob tratamento com as DAAs;

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS: as pesquisadoras referem os riscos durante a coleta de sangue e que os mesmos serão minimizados, pois a coleta será realizada por profissional experiente; o risco de constrangimento será minimizado uma vez que as pesquisadoras referem que se esforçarão para que a entrevista não seja cansativa e que deixarão os pacientes livres para, a qualquer momento, recusarem-se a responder às perguntas que lhe ocasionem constrangimento de qualquer natureza; e caso desejem deixar de participar da pesquisa não precisarão apresentar justificativas.

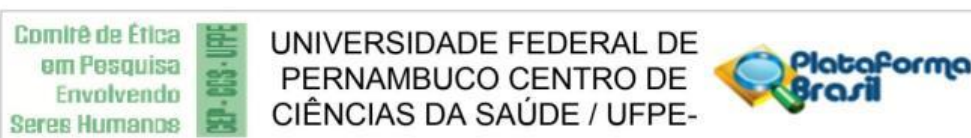
BENEFÍCIOS diretos e indiretos: Os voluntários da pesquisa passarão por uma avaliação frequente do estado da infecção do vírus da hepatite C, a qual permite que o tratamento seja avaliado mais precocemente e modificado, se necessário mais rapidamente; os pacientes terão acesso a todos os resultados de exames realizados. Esse estudo poderá trazer uma visão mais ampla da atuação desses novos medicamentos sobre a eliminação do vírus e essa população infectada pelo vírus da Hepatite C poderá ter uma melhor qualidade de vida, pois esses novos medicamentos possuem poucos efeitos colaterais e prometem eliminar totalmente o vírus C (90% de chances cura), diminuindo assim os números de pessoas infectadas no Estado de Pernambuco, no Brasil e mundialmente.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto de pesquisa está bem descrito. Trata-se de um estudo longitudinal, prospectivo do tipo Coorte de exposição especial, com uma coorte de expostos, conduzida entre pacientes transplantados de fígado com infecção pelo vírus da Hepatite C (HCV) submetidos ao tratamento com os novos antivirais de ação direta (DAAs). Simultaneamente será conduzida uma coorte concorrente, com pacientes não expostos, ou seja, pacientes não transplantados e infectados pelo HCV, sob tratamento com DAAs. No estágio final da doença hepática secundária à infecção pelo HCV (cirrose hepática avançada e/ou hepatocarcinoma), o transplante de fígado é a única terapêutica disponível. O presente estudo tem

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588

E-mail: cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 1.541.324

relevância uma vez que poderá trazer informações sobre a atuação dos novos antivirais de ação direta (DAA) na cinética da carga viral, em pacientes transplantados de fígado com infecção pelo HCV. As pesquisadoras referem que a pesquisa será desenvolvida em 3 hospitais: HC, HUOC e IMIP.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Folha de rosto devidamente assinada e datada; TCLE para maiores de 18 anos adequado; Lattes das pesquisadoras devidamente anexados; Projetos em ambos os formatos adequados; Com relação as cartas de anuência, foi apresentada apenas a carta de anuência do HC/UFPE;

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Nenhuma.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Protocolo foi avaliado na reunião do CEP e está APROVADO para iniciar a coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio da Notificação com o Relatório Final da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final para enviá-lo via "Notificação", pela Plataforma Brasil. Siga as instruções do link "Para enviar Relatório Final", disponível no site do CEP/UFPE. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

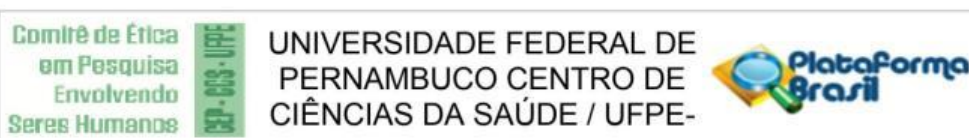
Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada neste protocolo aprovado, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao voluntário participante (item V.3., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Para projetos com mais de um ano de execução, é obrigatório que o pesquisador responsável pelo Protocolo de Pesquisa apresente a este Comitê de Ética, relatórios parciais das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

O CEP/UFPE deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (item V.5., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). É papel do/a pesquisador/a assegurar todas as medidas imediatas e adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 1.541.324

que tenha sido em outro centro) e ainda, enviar notificação à ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_712517.pdf	09/05/2016 08:48:22		Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.docx	09/05/2016 08:46:38	Heloisa Ramos Lacerda de Melo	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termodeconfidencialidade.pdf	09/05/2016 08:45:43	Heloisa Ramos Lacerda de Melo	Aceito
Outros	MarthaSadeLima.pdf	09/05/2016 08:44:36	Heloisa Ramos Lacerda de Melo	Aceito
Outros	ClarissaRamos.pdf	09/05/2016 08:44:22	Heloisa Ramos Lacerda de Melo	Aceito
Outros	IsabellaPatriciaLimaSilva.pdf	09/05/2016 08:43:54	Heloisa Ramos Lacerda de Melo	Aceito
Outros	HeloisaRamos.pdf	09/05/2016 08:41:06	Heloisa Ramos Lacerda de Melo	Aceito
Outros	CARTEANUENCIAIMIP.pdf	09/05/2016 08:40:33	Heloisa Ramos Lacerda de Melo	Aceito
Outros	CartadeAnuenciaHUOC.pdf	09/05/2016 08:40:11	Heloisa Ramos Lacerda de Melo	Aceito
Outros	CARTEANUENCIAHCSAME.pdf	09/05/2016 08:39:59	Heloisa Ramos Lacerda de Melo	Aceito
Outros	CARTEANUENCIAHC.pdf	09/05/2016 08:39:35	Heloisa Ramos Lacerda de Melo	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	TERMODEAUTORIHUOC.pdf	09/05/2016 08:38:56	Heloisa Ramos Lacerda de Melo	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	termodeautoriHC.pdf	09/05/2016 08:38:45	Heloisa Ramos Lacerda de Melo	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	termodeautoIMIP.pdf	09/05/2016 08:38:30	Heloisa Ramos Lacerda de Melo	Aceito
Outros	QUESTIONARIO.docx	09/05/2016 08:38:03	Heloisa Ramos Lacerda de Melo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEDOUTORADO.docx	09/05/2016 08:37:31	Heloisa Ramos Lacerda de Melo	Aceito

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588

E-mail: cepccs@ufpe.br

Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Serres Humanos 	UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-	
---	---	---

Continuação do Parecer: 1.541.324

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETODETALHADO.docx	09/05/2016 08:37:18	Heloisa Ramos Lacerda de Melo	Aceito
Folha de Rosto	FOLHADEROSTO.pdf	09/05/2016 08:36:53	Heloisa Ramos Lacerda de Melo	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

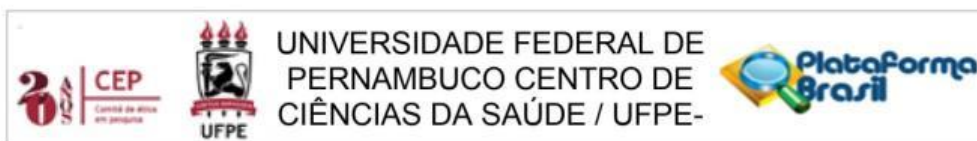
Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 12 de Maio de 2016

Assinado por:
LUCIANO TAVARES MONTENEGRO
(Coordenador)

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE E FATORES PREDITIVOS DE RESPOSTA DOS NOVOS ANTIVIRAIS DE AÇÃO DIRETA (DAAs) EM PACIENTES SUBMETIDOS AO TRANSPLANTE HEPÁTICO EM CENTROS REFERÊNCIA PARA HEPATITES VIRAIS NA CIDADE DE RECIFE-PE

Pesquisador: ISABELLA PATRICIA LIMA SILVA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 77745917.8.0000.5208

Instituição Proponente: CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.383.189

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de doutorado apresentado ao Programa de Pós Graduação em medicina Tropical, pela aluna ISABELLA PATRICIA LIMA SILVA, sob a orientação da Profª Drª Heloisa Ramos Lacerda de Melo.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a efetividade dos esquemas de tratamento da hepatite C contendo Sofosbuvir associado ao Simeprevir ou Daclatasvir em pacientes transplantados de fígado submetidos ao tratamento por 12 ou 24 semanas e identificar a presença ou não de fatores preditivos de resposta, em dois serviços de referência para hepatite C na cidade de Recife-PE, no período de dezembro de 2015 a novembro de 2019.

Objetivo Secundário:

- 1 - Comparar a efetividade dos esquemas de tratamento da hepatite C contendo Sofosbuvir associado ao Simeprevir ou Daclatasvir avaliando a taxa de resposta virologia sustentada (RVS) em pacientes transplantados de fígado e não transplantados infectados pelo vírus C;
- 2 - Determinar os fatores associados à resposta favorável ao tratamento considerando o regime terapêutico escolhido e duração, características do paciente, da infecção pelo vírus C e do

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde

Bairro: Cidade Universitária

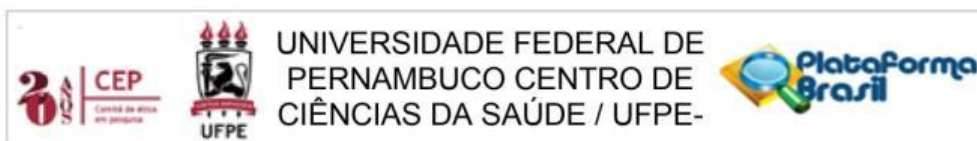
CEP: 50.740-600

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)2126-8588

E-mail: cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.383.189

estadiamento da doença hepática;

3 - Descrever características dos pacientes transplantados fígado que evoluíram sem resposta virológica sustentada ao tratamento;

4 - Demonstrar quantitativamente o clareamento da carga viral do vírus da hepatite C após doze semanas do início do tratamento, que não foram previamente tratados versus os que receberam tratamento prévio;

5 - Estratificar a gravidade do dano hepático em pacientes transplantados e não transplantados de fígado com infecção pelo vírus da Hepatite C, que tenham sido submetidos ao tratamento antiviral, através dos valores dos níveis das transaminases, INR, albumina sérica e bilirrubinas total;

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: a pesquisadora refere que podem ocorrer danos de ordem não-física (emocional, social, moral ou espiritual), causando em algum momento o risco de constrangimento, cansaço (por ter que responder várias perguntas), medo, receio, ou invasão de privacidade, por estar expondo seus dados pessoais. Para minimização dos riscos a pesquisadora refere que as entrevistas serão realizadas em um lugar reservado, apenas com o pesquisador e o

paciente, e todos os dados coletados através do questionário/entrevista serão mantidos em total sigilo, confidencialidade e anonimato dos sujeitos envolvidos na pesquisa. Foi apresentado termo de confidencialidade.

Benefícios diretos: Os voluntários da pesquisa passarão por uma avaliação frequente do estado da infecção do vírus da hepatite C, a qual permitirá que o tratamento seja avaliado mais precocemente e modificado, se necessário mais rapidamente.

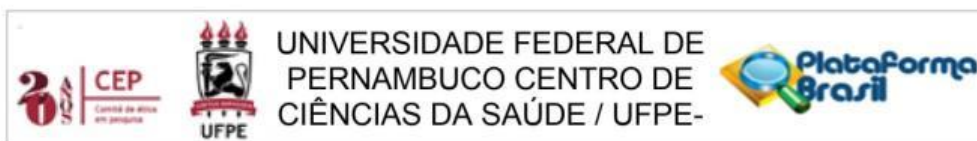
Benefícios indiretos: Serão estendidos a outros pacientes no futuro uma vez que esse estudo possibilitará uma visão mais ampla da atuação desses novos medicamentos sobre a eliminação do vírus na população infectada pelo vírus da Hepatite C, também sendo importante na adesão ao tratamento fornecido pelo SUS e sua consequente efetividade.

Portanto, os resultados do estudo deverão refletir a situação clínica da infecção pelo vírus C e sua taxa de cura pela nova terapia na população Pernambucana transplantada.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo, observacional, longitudinal, prospectivo e retrospectivo do tipo Coorte, conduzido em dois serviços de referência para hepatite C na cidade de Recife-PE, no período de dezembro de 2015 a novembro de 2019. As combinações de antivirais de ação direta representam um avanço no tratamento da hepatite C, principalmente em indivíduos que eram refratários ou intolerantes a terapias baseadas em Interferon e Ribavirina. É de grande importância a pesquisa

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.383.189

sobre as interações dos novos antivirais que prometem uma eficácia de 100% levando a cura dessas pacientes que convivem há anos com essa doença, bem como a efetividade dos novos DAAs e seus fatores associados.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos de apresentação obrigatória foram devidamente anexados.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há

Considerações Finais a critério do CEP:

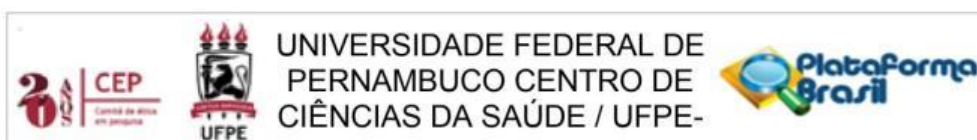
As exigências foram atendidas e o protocolo está APROVADO, sendo liberado para o início da coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio do Relatório Final da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final para enviá-lo via "Notificação", pela Plataforma Brasil. Siga as instruções do link "Para enviar Relatório Final", disponível no site do CEP/CCS/UFPE. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada neste protocolo aprovado, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao voluntário participante (item V.3., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Para projetos com mais de um ano de execução, é obrigatório que o pesquisador responsável pelo Protocolo de Pesquisa apresente a este Comitê de Ética relatórios parciais das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). O CEP/CCS/UFPE deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (item V.5., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). É papel do/a pesquisador/a assegurar todas as medidas imediatas e adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e ainda, enviar notificação à ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento.

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br

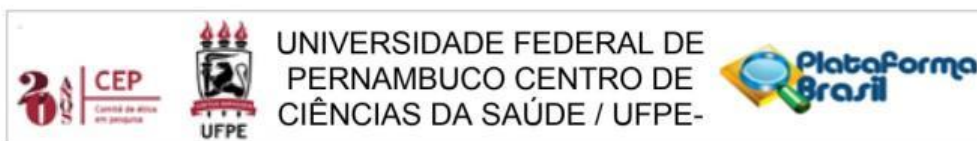


Continuação do Parecer: 2.383.189

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_978877.pdf	07/11/2017 02:23:40		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETONOVO.pdf	07/11/2017 02:17:15	ISABELLA PATRICIA LIMA SILVA	Aceito
Outros	CARTA.pdf	07/11/2017 00:49:45	ISABELLA PATRICIA LIMA SILVA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLENOVO.pdf	07/11/2017 00:47:08	ISABELLA PATRICIA LIMA SILVA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOISABELLA.pdf	28/09/2017 10:40:11	ISABELLA PATRICIA LIMA SILVA	Aceito
Outros	COMPROVANTEMATRICULA.pdf	26/09/2017 13:31:51	ISABELLA PATRICIA LIMA SILVA	Aceito
Outros	AutorizacaoSetorIMIP.pdf	26/09/2017 13:22:06	ISABELLA PATRICIA LIMA SILVA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE2017.pdf	26/09/2017 13:19:52	ISABELLA PATRICIA LIMA SILVA	Aceito
Outros	TermoConfidencialidade.pdf	26/09/2017 13:19:22	ISABELLA PATRICIA LIMA SILVA	Aceito
Folha de Rosto	FOLHAROSTO.pdf	21/09/2017 15:04:07	ISABELLA PATRICIA LIMA SILVA	Aceito
Outros	CARTAANUENCIADIRETORIMIP.pdf	14/09/2017 15:53:25	ISABELLA PATRICIA LIMA SILVA	Aceito
Outros	AUTORIZADADOSHC.pdf	14/09/2017 15:52:40	ISABELLA PATRICIA LIMA SILVA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CARTASAMES.pdf	14/09/2017 15:51:34	ISABELLA PATRICIA LIMA SILVA	Aceito
Outros	CARTAANUENCIAHC.pdf	14/09/2017 15:51:22	ISABELLA PATRICIA LIMA SILVA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	TERMODESETORHC.pdf	14/09/2017 15:50:56	ISABELLA PATRICIA LIMA SILVA	Aceito
Outros	CVMARTHA.pdf	14/09/2017 15:45:01	ISABELLA PATRICIA LIMA SILVA	Aceito
Outros	CVCLARISSA.pdf	14/09/2017 15:44:27	ISABELLA PATRICIA LIMA SILVA	Aceito
Outros	CVHELOISA.pdf	14/09/2017 15:43:49	ISABELLA PATRICIA LIMA SILVA	Aceito

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.383.189

Outros	CVISABELLA.pdf	14/09/2017 15:43:17	ISABELLA PATRICIA LIMA SILVA	Aceito
Outros	QUESTIONARIO.pdf	14/09/2017 15:39:27	ISABELLA PATRICIA LIMA SILVA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 16 de Novembro de 2017

Assinado por:
LUCIANO TAVARES MONTENEGRO
(Coordenador)

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br

ANEXO B- AUTORIZAÇÃO A CONSULTAR OS PRONTUÁRIOS DOS PACIENTES NO SAME DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS/UFPE



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFPE
FILIAL DA EMPRESA BRASILEIRA DE
SERVIÇOS HOSPITALARES

CARTA DE ANUÊNCIA

Recife, 15 de Agosto de 2017.

Declaramos para os devidos fins, que aceitaremos o desenvolvimento, no Serviço de Arquivo Médico e Estatística – SAME, do projeto de pesquisa intitulado “**Avaliação da Efetividade e Fatores Preditivos de Resposta Dos Novos Antivirais de Ação Direta (DAAs) em Pacientes Submetidos ao Transplante Hepático em Centros Referência para Hepatites Virais na Cidade de Recife-PE**”, que está sob a orientação da Prof. Dra. Heloisa Ramos Lacerda de Melo e as Pesquisadoras Doutoranda Isabella Patrícia Lima Silva, auxiliados pela colaboradora, as alunas de Iniciação Científica: Clarissa Ramos Lacerda de Melo e Martha Sá de Lima. Serão consultados aproximadamente 150 prontuários durante 24 meses.

A aceitação está condicionada a autorização da Gerência de Ensino e Pesquisa do HC/UFPE, pelo período de execução previsto no referido projeto e ao cumprimento pelas pesquisadoras dos requisitos da Resolução 466/12 e suas complementares, comprometendo-se com a confidencialidade dos dados e materiais coletados, utilizando-os exclusivamente para os fins da pesquisa.

Após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa e comunicação da Gerência de Ensino e Pesquisa, os prontuários serão disponibilizados mediante agendamento prévio.

PROF^a. CÉLIA Ma. M. B. CASTRO
GERENTE DE ENSINO E PESQUISA

DIANA ALMEIDA
CHEFE DO SERVIÇO DE ARQUIVO
MÉDICO E ESTATÍSTICA