

Ana Margarida da Silva Machado

Tratamento da Hepatite C

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde
Porto, 2019

Ana Margarida da Silva Machado

Tratamento da Hepatite C

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde
Porto, 2019

Ana Margarida da Silva Machado

Tratamento da Hepatite C

Atesto a originalidade do trabalho,

Ass.: _____

(Ana Margarida da Silva Machado)

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Resumo

A hepatite C é uma infecção aguda ou crónica originada pelo vírus da hepatite C (VHC), que atinge o fígado causando a sua inflamação. Esta pode variar quanto à sua severidade, de uma doença com curta duração (algumas semanas), ou progredir para uma doença mais severa que pode ser para toda a vida. Segundo dados da OMS, chegou-se a uma estimativa em que se concluiu que cerca de 3 % da população possa estar infetada pelo VHC. A maioria dos doentes com esta infecção desenvolvem a forma crónica da doença, tendo grande probabilidade de evoluir clinicamente para uma cirrose hepática e hepatocarcinoma. Devido ao VHC apresentar uma grande variabilidade genética, coloca um entrave ao desenvolvimento de métodos capazes de combater esta doença com a máxima eficácia. O fato de nos dias de hoje ainda não existir vacina para o VHC, e do tratamento convencional provocar vários efeitos secundários, fez aumentar o interesse de muitas equipas de investigação para a pesquisa e produção de fármacos com mais eficácia, de forma a determinar qual o esquema terapêutico mais vantajoso para cada doente, atendendo à segurança e eficácia.

O objetivo principal deste trabalho foi uma revisão da literatura sobre o VHC, a sua classificação e estrutura. O ciclo de vida, a resposta imunitária, genotipagem, epidemiologia, transmissão e diagnóstico também são revistos. Por último, o trabalho foca-se no tratamento do VHC, a sua avaliação, testes laboratoriais, requisitos e fármacos atualmente usados.

Palavras-Chave: Hepatite C, vírus da Hepatite C, epidemiologia, fatores de risco, tratamento.

Abstract

Hepatitis C is an acute or chronic infection originated by hepatitis c virus (HCV) that reaches the liver causing inflammation. It may vary in severity, from a disease with short duration (a few weeks) or progress to a more severe disease, which can be lifelong. According to WHO data, it was estimated that about 3% of the population may be infected with HCV. Most patients with HCV infection develop the chronic form of the disease and are very likely to progress clinically to liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. The fact that HCV has great genetic variability hinders the development of methods capable of combating this disease with maximum effectiveness. The lack of HCV vaccine, and the side effects of standard treatment, have raised the interest of many research teams in developing more effective drugs, to determine the most beneficial therapeutic regimen for each patient, taking into account safety and effectiveness.

The main objective of this work was the review of the literature on HCV, its classification, structure and structural and nonstructural proteins of the virus. The life cycle, immune response, genotyping, epidemiology, transmission and diagnosis are also reviewed. Finally, the work focuses on HCV treatment, its assessment, laboratory tests, requirements and drugs that are currently used.

Keywords: Hepatitis C, Hepatitis C vírus, epidemiology, risk factors, treatment.

Dedicatória

É com imenso orgulho que concluo este trabalho, agradecendo principalmente aos meus pais por todo o suporte dado ao longo deste percurso. Nem sempre foi fácil, mas com a vossa ajuda esta etapa está a chegar ao fim.

Pais, irmãos e marido, este trabalho é dedicado a todos vós. Estou-vos grata pela vossa compreensão ao longo deste processo, nem sempre fácil. No final fica a sensação de dever cumprido, e a realização de mais um objetivo, nesta jornada que é a vida.

Agradecimentos

A elaboração desta tese de mestrado contou com o importante apoio e incentivo daqueles que me são mais próximos, sem os quais não teria conseguido concluir esta etapa.

À minha família, particularmente aos meus pais e marido, à Universidade Fernando Pessoa, os meus sinceros agradecimentos.

Especial agradecimento para minha orientadora, a Professora Doutora Fátima Cerqueira, por todo o carinho e paciência demonstrado ao longo deste trabalho.

Índice

Resumo	v
Abstract.....	vi
Dedicatória.....	vii
Agradecimentos	viii
Índice	ix
Índice de Figuras	x
Índice de Tabelas	xi
Abreviaturas.....	xii
I. Introdução.....	1
II. Epidemiologia	5
III. Vírus da Hepatite C (VHC)	6
IV. Ciclo de Vida do VHC	10
V. Diversidade genética do VHC.....	11
VI. Resposta do sistema imunitário à infecção pelo VHC	13
VII. Transmissão	15
VIII. Diagnóstico.....	17
IX. Tratamento.....	21
9.1. Avaliação pré-tratamento.....	21
9.2. Requisitos para realizar o tratamento.....	23
9.3. Fármacos e tratamentos usados.....	24
X. Conclusão	32
XI. BIBLIOGRAFIA	33

Índice de Figuras

Figura 1: Incidência da infecção por VHC no mundo. As zonas mais escuras representam o maior número de infetados. Adaptado de (Organização Mundial de Saúde, 2017).....	2
Figura 2: Evolução da infecção pelo VHC. Adaptado de (Aman, 2012; Organização Mundial de Saúde, 2016).....	2
Figura 3: VHC- Estrutura. Adaptado de (Strauss, 2001).....	6
Figura 4: Genoma do VHC. Adaptado de (Moradpour, et al., 2007).....	7
Figura 5: Estrutura da cadeia NS3-NS4A. Adaptado de (Gu, et al., 2013).....	8
Figura 6: Ciclo replicativo do VHC. Adaptado de (Nicks, 2017).	10
Figura 7: Diferente distribuição dos genótipos do VHC. Adaptado de (Organização Mundial de saúde, 2016)	12
Figura 8: Transmissão do VHC. Adaptado de (Fritzel, 2017).....	16
Figura 9: Representação gráfica da deteção do ARN do VHC (resultado positivo). A linha verde representa um controlo positivo sofre amplificação, a curva vermelha representa o ARN do VHC (resultado positivo). Imagem obtida do COBAS® TaqMan® pela autora.	18
Figura 10: Fluxograma do diagnóstico da infecção pelo VHC. Adaptado de (Pawlotsky, et al.,1997).....	19
Figura 11: Tratamentos do VHC aprovados. Adaptado de (Infarmed, 2018)..	31

Índice de Tabelas

Tabela 1: Classificação de Child-Turcotte-Pugh. Adaptado de (Kasper, et al., 2016).. 23

Tabela 2: Resumo de esquemas recomendados e duração de tratamento em indivíduos que não apresentam cirrose. Adaptado de (OMS, 2016)..... 28

Tabela 3: Resumo de esquemas recomendados e duração de tratamento em indivíduos com cirrose. Adaptado de (OMS, 2016)..... 29

Tabela 4: Resumo de esquemas alternativos e duração de tratamento em indivíduos que não apresentam cirrose. Adaptado de (OMS, 2016)..... 29

Tabela 5: Resumo de esquemas alternativos e duração de tratamento em indivíduos com cirrose. Adaptado de (OMS, 2016)..... 30

Abreviaturas

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

ALT: Alanina Aminotransferase

ARN: Ácido Ribonucleico

ARNm: ARN mensageiro

CTLs: Linfócitos T Citotóxicos

CTP: Child-Turcotte-Pugh

DAAs: Direct Acting Antiviral

DGS: Direção Geral de Saúde

EASL: European Association for the Study of the Liver

ELISA: Ezyme-Linked Imuno-Assay

FA: Fosfatase Alcalina

FDA: Food and Drug Administration

IDU: Injection Drug Use

IFN: Interferão

IP: Inibidor da Protease

IRES: Local de Entrada Interno do Ribossoma

ISDR: *Interferon Sensitivity-Determining Region*

MyD88: Gene de Diferenciação Mieloide 88

NI: Inibidores de Nucleótidos

NNI: Inibidores não Nucleótidos

NTR: Regiões Não Traduzidas

OMS: Organização Mundial de Saúde

ORF: *Open Reading Frame*

PCR: *Polymerase Chain Reaction*

PEG-IFN: Interferão Peguilado

RBV: Ribavirina

RVS: Resposta Viroológica Sustentada

TLR: Toll-like Receptor

UDIs: Utilizadores de Drogas Injetáveis

VHB: Vírus da Hepatite B

VHC: Vírus da Hepatite C

VIH: Vírus da Imunodeficiência Humana

VLDL: Lipoproteína de Muito Baixa Densidade

I. Introdução

Com o desenvolvimento de testes mais sensíveis foi possível distinguir-se alguns casos de hepatite, na qual a infeção não era provocada pelos vírus da hepatite A nem da hepatite B (Choo, et al., 1989). Ao mesmo tempo, constatou-se um considerável aumento de casos de cirrose e carcinoma hepático (Choo, et al., 1989).

Em 1989, uma equipa de investigadores conseguiu identificar o vírus da hepatite C (VHC) como sendo responsável por esta infeção. Anteriormente, esta hepatite era designada de não-A e não-B (Choo, et al., 1989). O VHC tem sido descrito como um dos principais agentes etiológicos causadores de lesões associadas ao fígado. Estas lesões apresentam um potencial aumentado de evoluírem para a forma cónica da doença hepática (Wandelera, et al., 2015).

A hepatite é uma doença sistémica, sendo o fígado o alvo principal deste vírus (Anjo, et al., 2014). Atualmente, existem alguns vírus associados à hepatite humana. De acordo com os dados da DGS os tipos de hepatites virais mais relevantes são: hepatite A, B e C (Direção Geral de Saúde, 2016). Todos estes vírus apresentam diferenças a nível estrutural e biológico (European Association for the Study of the Liver, 2018). A hepatite C é aquela que tem maior probabilidade de evolução para a forma crónica (Direção Geral de Saúde, 2016), não havendo ainda vacina contra a Hepatite C (Kohli, 2014).

Em 2015, as hepatites virais causaram cerca de 1.34 milhões de mortes em todo o mundo, a maioria devido a cirroses e carcinoma hepatocelular. Todos os anos, 1.75 milhões de pessoas são infetadas com Hepatite C e cerca de 350.000 a 500.000 pessoas morrem devido a complicações relacionadas com VHC (Munir, 2010). As regiões mais afetadas são a Ásia e o Norte de África (Figura 1), contudo os dados existentes sobre a epidemiologia da doença, nem sempre correspondem à realidade, estando os estudos realizados ainda bastante limitados, pela falta de dados de algumas partes do mundo (Lavanchy, 2011; Organização Mundial de Saúde, 2017). Uma das razões é o fato de alguns indivíduos na fase inicial da doença, não terem conhecimento do seu estado clínico, pelo fato de não apresentarem sintomatologia, isto é, desconhecem estar infetados pelo VHC (Lavanchy, 2011).

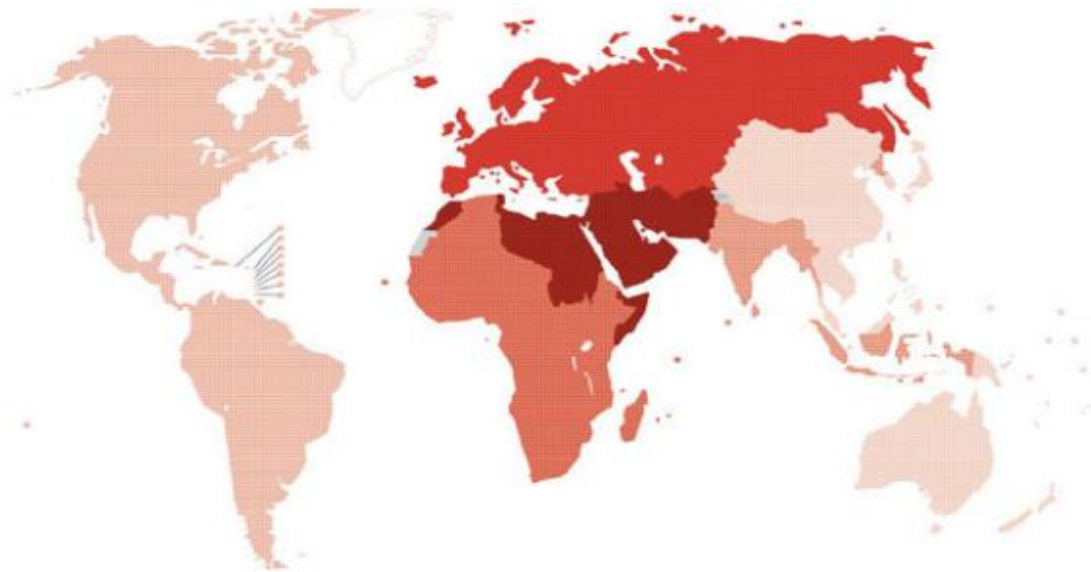


Figura 1: Incidência da infecção por VHC no mundo. As zonas mais escuras representam o maior número de infetados. Adaptado de (Organização Mundial de Saúde, 2017).

Os sintomas de Hepatite C incluem febre, fadiga, fastio, enjoos, dores de estômago, urina mais escurecida, fezes acinzentadas, dores nas articulações e icterícia (Organização Mundial de Saúde, 2016). Aproximadamente 80% das pessoas não exibem sintomas, desconhecendo que são portadoras do vírus, cerca de 75-85% dos novos casos de infetados pelo VHC tendem a evoluir para a forma crónica da doença, 5-20% apresentam cirrose e 1-5% morrem devido à cirrose ou à evolução da doença para um carcinoma hepatocelular (Aman, 2012; Organização Mundial de Saúde, 2016). Na figura 2 estão representados os danos que podem ser causados no fígado, quando uma pessoa está infetada pelo VHC.

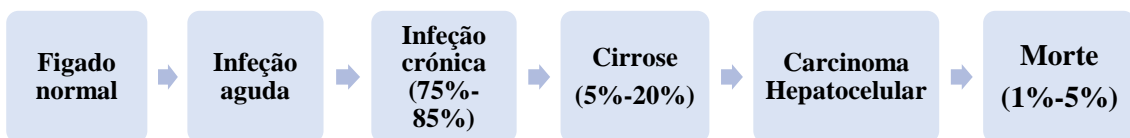


Figura 2: Evolução da infecção pelo VHC. Adaptado de (Aman, 2012; Organização Mundial de Saúde, 2016).

A transmissão do VHC é normalmente feita por exposição a sangue infetado. Segundo a OMS alguns exemplos de vias de transmissão do vírus são:

- ✓ Injeção de drogas com seringas partilhadas;
- ✓ Reutilização de equipamento médico não esterilizado;
- ✓ Transfusão de sangue ou órgãos sem análise prévia deste (Organização Mundial de Saúde, 2017).

Outras formas de transmissão do vírus são relações sexuais desprotegidas e transmissão de mãe para feto, no entanto estas formas de transmissão são menos comuns, sendo que o VHC não se transmite através da amamentação, alimentação, água ou contacto físico num contexto social (Vermehren, 2018).

O diagnóstico é feito através de análises sanguíneas, inicialmente através de testes serológicos da pesquisa do anticorpo anti-VHC (Organização Mundial de Saúde, 2016). Se a pesquisa do anticorpo for positiva é necessário confirmar a presença do ARN do vírus, a fim de se perceber se a infeção é crónica (European Association for the Study of the Liver, 2018).

Após o doente ser diagnosticado com Hepatite C crónica, mais análises serão feitas a fim de se perceber os danos causados pelo vírus no fígado. Estas análises podem ser feitas através de biópsias (Direção Geral de Saúde, 2017).

O diagnóstico prévio da doença é essencial para prevenir os problemas de fígado associados ao VHC (Vermehren, 2018). As populações com risco mais elevado de contrair Hepatite C são:

- ✓ Toxicodependentes;
- ✓ Pacientes de centros de saúde com métodos de esterilização inapropriados;
- ✓ Pacientes que possam ter recebido transfusões de sangue sem análise prévia deste;
- ✓ Crianças cujas mães estão infetadas pelo VHC;
- ✓ Pessoas cujos parceiros sexuais estejam infetados pelo VHC;
- ✓ Pessoas portadoras do vírus da imunodeficiência humana;
- ✓ Pessoas que fazem tatuagens ou piercings (Vermehren, 2018).

É também necessário identificar o genótipo do VHC. Há seis genótipos diferentes do VHC e todos eles respondem de forma diferente aos tratamentos (Lavanchy, 2011). É possível que o mesmo doente esteja infectado com mais do que um genótipo, portanto os danos causados no fígado e o tipo de genótipo são os critérios usados para decidir o tratamento a seguir (Forns, 2018).

Esta doença pode ser tratada com elevada taxa de sucesso recorrendo a medicação antiviral, no entanto o fígado pode sofrer danos irreversíveis (Kohli, 2014).

A ausência da carga viral do HCV (ARN viral) ao fim de 6 meses dita o êxito do tratamento (resposta virológica sustentada, RVS), os valores da taxa de sucesso estão compreendidos entre 42% e 80%, o genótipo viral tem uma grande impacto no sucesso do tratamento (Myrmel, 2009). O tratamento antiviral cura cerca de 95% das pessoas infectadas, mas apesar do acesso ao tratamento estar a melhorar, uma grande percentagem dos doentes continua sem acesso à terapêutica necessária, fundamentalmente nos países mais desfavorecidos (Organização Mundial de Saúde, 2016). Em 2015, 14,2 milhões de pessoas infectadas sabiam que eram portadoras do vírus e destas, apenas 7,4% estavam a receber tratamento, mas em 2016, esta taxa subiu para 13%, no entanto, o objetivo da OMS é atingir 80% de pessoas em tratamento até 2030 (Organização Mundial de Saúde, 2016).

De modo a eliminar as hepatites e diminuir o número de mortes causadas por estas, a OMS pretende consciencializar as pessoas dos seus perigos, ao promover parcerias com associações e partidos políticos, incluindo a melhoria dos serviços de saúde para o seu rastreamento, atendimento e tratamento (Organização Mundial de Saúde, 2016).

Este trabalho foca-se na Hepatite C e no seu vírus (VHC), a sua classificação, estrutura, e ciclo de vida. A resposta do sistema imunitário, epidemiologia, transmissão e diagnóstico também serão estudadas mais aprofundadamente. Será dado mais importância ao tratamento da infeção por este vírus.

II. Epidemiologia

O VHC é um vírus que se encontra distribuído de forma bastante diferente a nível mundial, calcula-se que aproximadamente 3 % da população mundial possa apresentar infeção pelo VHC, esta taxa de prevalência significa que cerca de 130 a 170 milhões de indivíduos estão infetadas por este vírus (Hoofnagle, 2002).

Em Portugal os estudos sobre a infeção pelo VHC ainda são muito escassos, estimando-se que 45% dos casos de hepatites notificados são devido à infeção pelo VHC e 150 000 portugueses estejam infetados pelo VHC, embora nem todos os casos estejam notificados (Instituto Nacional de Estatística, 2009).

O número de mortes por ano devido a doenças relacionadas ao HCV continua a aumentar. De acordo com alguns estudos efetuados pela OMS (2016, p. 18) “(...) o número de mortes por hepatite C foi de 333 000 em 1990, 499 000 em 2010 e 704 000 em 2013.” (Organização Mundial de Saúde, 2016).

Este aumento retrata a elevada existência de infeções provocadas pelo VHC durante o século passado. Acredita-se que o aumento do uso de drogas injetáveis e procedimentos parenterais tenham dado um grande contributo para o aumento destes valores (Organização Mundial de Saúde, 2016).

Análises mais recentes da prevalência global de VHC indicam que pode haver menos pessoas a viver com infeção pelo VHC do que o estimado anteriormente, de acordo com OMS em 2013, uma revisão sistemática concluiu que havia 184 milhões de pessoas com histórico de infeção pelo VHC, dessas, cerca de 130-150 milhões podiam estar infetados (Organização Mundial de Saúde, 2016). Uma revisão sistemática mais recente que excluiu estudos mais antigos estimou que 115 milhões de pessoas estão infetadas pelo VHC e destas 80 milhões desenvolveram infeção crónica (Organização Mundial de Saúde, 2016).

III. Vírus da Hepatite C (VHC)

O VHC é o vírus que provoca a Hepatite C. A doença caracteriza-se por ser assintomática numa fase inicial na maior parte dos doentes, podendo evoluir para a forma crónica da doença, originando nos casos mais graves uma cirrose ou um carcinoma hepatocelular (Vermehren, 2018).

O VHC é um vírus que faz parte da família *Flaviviridae* e do género *Hepacivirus* (Schmaljohn, 1996). Este vírus tem seis génotipos diferentes, que estão subdivididos em aproximadamente 90 subtipos, o que lhe confere uma grande capacidade de se modificar, daí apresentar uma grande variabilidade genética, característica considerada um grande entrave ao desenvolvimento de vacinas para combater a infeção pelo VHC (Hoofnagle, 2002).

O VHC é um vírus ARN de cadeia simples e polaridade positiva, com cerca de 9600 nucleótidos (Strauss, 2001). Apresenta-se como um vírus de forma esférica de aproximadamente 30-60nm, possuindo uma nucleocápside proteica (Figura 3) (Strauss, 2001). A cápside está rodeada por um involucro lipídico no qual se encontram as proteínas estruturais E1 e E2 (proteínas do envelope), e uma outra proteína estrutural, a proteína core que faz parte das proteínas do capsídeo (Hoofnagle, 2002; Moradpour, et al., 2007; Ghasemi, 2015).

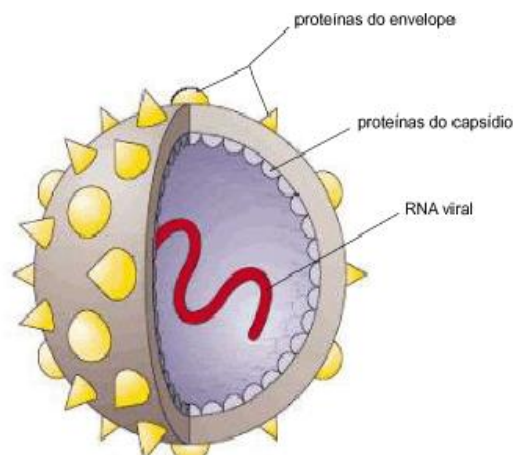


Figura 3: VHC- Estrutura. Adaptado de (Strauss, 2001).

O genoma contém uma fase de leitura aberta ORF (*open reading frame*), que constitui quase todo o genoma e codifica uma poliproteína com mais de 3000 aminoácidos. Nos terminais 5' e 3' a ORF é flanqueada pelas: 5'NTR e 3'NTR (Non Translated Regions) (Moradpour, et al., 2007; Timm, et al., 2007). Pensa-se que estas regiões não codificantes (ORF, 5'NTR, 3'NTR) e de uma menor diversidade, apresentam um papel de grande destaque nos processos de tradução da poliproteína e da replicação do ARN viral (Echeverría, 2015). A 5' NTR é uma região interna de entrada ribossomal (IRES) onde começa a tradução do genoma do HCV (Araújo, et al., 2008).

A poliproteína precursora é processada em várias proteínas individuais por intermédio de proteases virais e peptidases celulares, dando origem às proteínas estruturais (proteína core e duas glicoproteínas (E1 e E2) e às não estruturais (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B e p7) (Figura 4) (Stankovic-Djordjevic, et al., 2007).

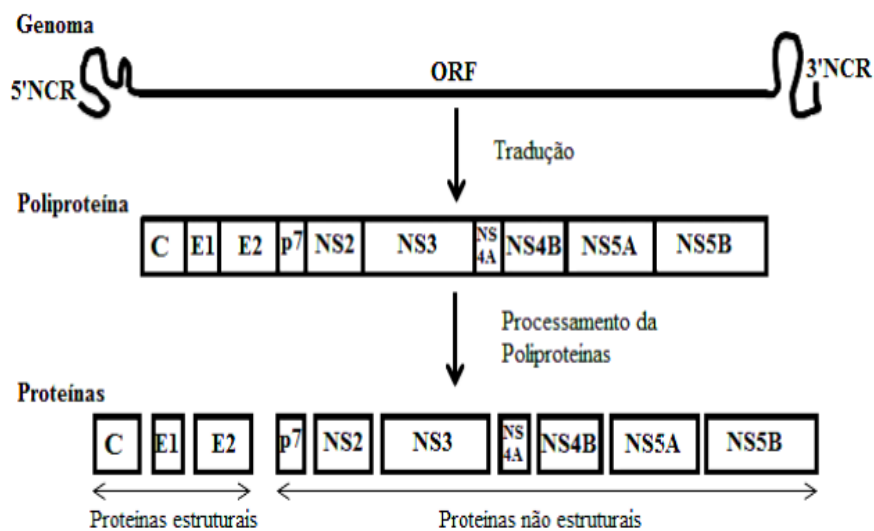


Figura 4: Genoma do VHC. Adaptado de (Moradpour, et al., 2007).

A proteína core está envolvida no processo de ligação ao recetor e fusão celular e liga-se ao ARN viral constituindo a nucleocapsíde. (Rosemberg, 2001). As proteínas E1 e E2 são fundamentais no envelope do vírus, mediando a ligação do HCV a recetores nas células hepáticas, nomeadamente ao CD81 (Ghasemi, et al., 2015; Kalinina, et al., 2015).

A formação do vírus é um processo complexo que, no caso do VHC, envolve as glicoproteínas E1 e E2 e duas proteínas não estruturais, P7 e NS2, cujo papel neste mecanismo não é completamente explícito (Jones, et al., 2007; Jirasko, 2010; Kupfer, 2018). A NS2 é uma protease cisteínica, não está diretamente implicada na replicação de ARN, tem de sofrer clivagem no N-terminal, para permitir este processo (Jirasko, 2010). Apesar do modo de ação da NS2 durante a formação do vírus ser desconhecido até ao momento, os estudos mais recentes sugerem que esta proteína tem um papel importante, regulando a montagem da partícula viral (Jones, et al., 2007; Yi, et al., 2009).

As restantes proteínas não-estruturais, têm diversas funções (Ghasemi, et al., 2015; Kalinina, et al., 2015). Elas têm a capacidade de interagir mutuamente contribuindo para a replicação e virulência do VHC (Bartenschlager, et al., 2011).

NS3, composta por duas folhas β , tem várias funções na replicação do vírus: pode atuar como protease ou como helicase interagindo com a NS4A (Figura 5) (Gu, et al., 2013). Recentemente, dois fármacos inibidores da NS3/ NS4A entraram no mercado para combater o VHC (Bennett, et al., 2010; Romano, et al., 2012).

A NS4A, composta por uma hélice α , age como co-factor desta, formando uma cadeia entre dois filamentos NS3, aumentando a atividade de protease da NS3, as funções destas duas estruturas têm despertado o interesse de alguns grupos de investigação, pois há fortes indícios que a atividade como protease ajude na replicação do vírus (Bennett, et al., 2010; Romano, et al., 2012; Gu, et al., 2013). Mutações na hélice da NS4A, estão normalmente associadas à hiperfosforilação da NS5A e por consequência, erros na replicação do vírus (Phan, 2011).

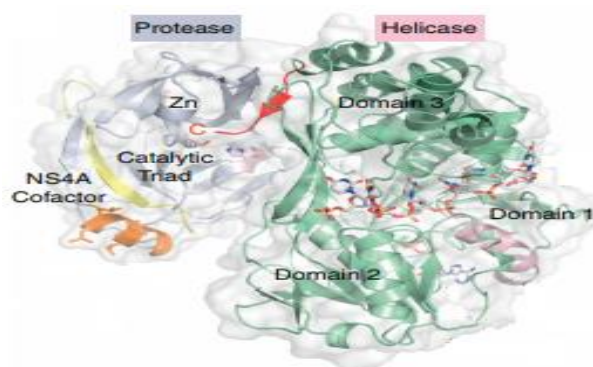


Figura 5: Estrutura da cadeia NS3-NS4A. Adaptado de (Gu, et al., 2013)

NS4B é uma proteína que forma teias membranosas importantes para a replicação do vírus, apresenta ainda um enorme poder de atrair outras proteínas não-estruturais para que se forme todo complexo de replicação e também exibe atividade de cinase (Lohmann, 2003). Recentemente, comprovou-se que a replicação do vírus é defeituosa quando esta proteína fica inibida (Rai, et al., 2011). Outros estudos indicam que esta proteína, não só é importante para a replicação do vírus como também para o seu estado mais maduro (Jones, 2008).

A proteína NS5A tem despertado interesse pela sua capacidade de modulação da resposta ao interferão (IFN), uma das principais terapias para a Hepatite C (Le Guillou-Guillemette, et al., 2007). A resistência ao IFN prende-se ao fato da capacidade desta proteína se ligar à cinase indutora do IFN, fazendo com que este fique inibido (Bartenschlager, et al., 2011; Kupfer, 2018). Uma sequência conservada de 40 aminoácidos, localizada no centro da NS5A, é a zona responsável pela resistência ao IFN, e foi por isso designada de região determinante de resistência ao IFN (ISDR – *Interferon sensitivity-determining region*) (Kupfer, 2018).

NS5B é uma proteína enzimática responsável pela síntese de novos ARN usando a molécula de ARN como modelo para catalisar a polimerização de ribonucleosídeos trifosfato durante a replicação (Bartenschlager, et al., 2011). Estudos mais recentes do genótipo desta proteína indicam a presença de um local ativo, onde seria possível controlar o nucleótido e por isso, impedir a replicação do ARN (Moradpour, 2013; Kupfer, 2018). Vários fármacos estão a ser desenvolvidos para esta ação, alguns ainda em testes clínicos e outros já completamente desenvolvidos e aprovados pela FDA (como o Dasabuvir) (Moradpour, 2013; Kupfer, 2018).

IV. Ciclo de Vida do VHC

O ciclo de vida do VHC contempla uma série de passos, como mostra a figura 6 (Moradpour, et al., 2007; Gerold, et al., 2014). Tal como todos os vírus, também o VHC tem primeiramente de se ligar a uma célula hospedeira capaz de suportar a sua replicação (Moradpour, et al., 2007; Gerold, et al., 2014). Uma vez que o vírus entra nas células hepáticas (endocitose), dá-se a libertação da nucleocápside no citoplasma, ocorrendo a descapsidação (Moradpour, et al., 2007; Sabahi, 2009). Posteriormente ocorre a tradução do ARN viral, processamento da poliproteína e formação das proteínas estruturais e não estruturais (Sabahi, 2009). Logo depois de ocorrer a replicação a partícula viral vai ser montada e libertada (Sabahi, 2009). A replicação deste vírus termina com a maturação do virião e a saída da célula (Figura 6) (Moradpour, et al., 2007; Li, et al., 2015).

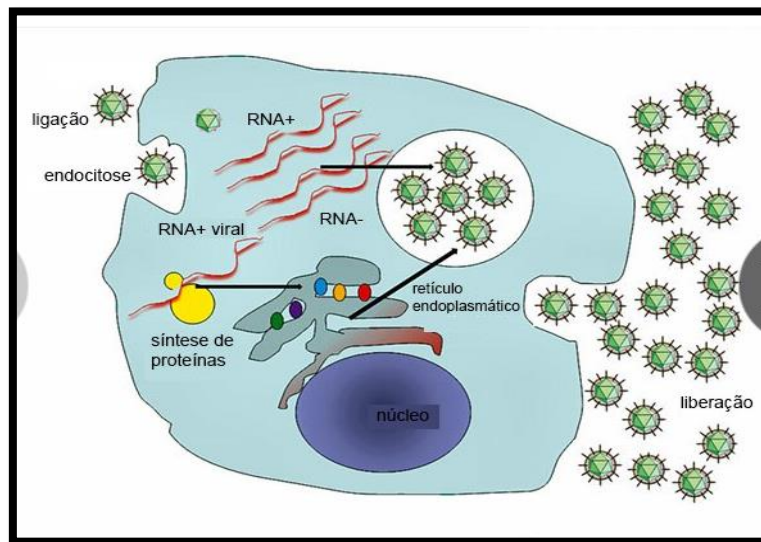


Figura 6: Ciclo replicativo do VHC. Adaptado de (Nicks, 2017).

V. Diversidade genética do VHC

O genoma do VHC possui um elevado grau de variabilidade genética, que se encontra relacionada com o fato da enzima ARN-polimerase não possuir atividade corretiva (*proofreading*), dando origem a mutações (Smith, et al., 2013).

Através da comparação da sequência nucleotídica do VHC, de pessoas infetadas em partes geográficas diferentes, bem como pessoas com determinados comportamentos de risco, evidenciaram a presença 6 grupos genéticos principais classificados de 1 a 6 (Figura 7), e múltiplos subtipos (Messina, et al., 2015; Rehmann, 2016). Foram relatados aproximadamente 90 subtipos do VHC denominados por letras minúsculas associadas com o algarismo do respetivo genótipo (1a, 2c) (Messina, et al., 2015).

Os genótipos e subtipos do VHC, encontram-se amplamente distribuídos pelas diversas regiões geográficas, representando 46,2% das infeções pelo VHC o genótipo 1 e 30,1% o genótipo 3 (Gower, 2014; Shin-I, et al., 2016). Na maior parte dos pacientes infetados pelo VHC encontram-se os subtipos 1a e 1b: o subtipo 1a que se encontra difundido em larga escala pelos Estados Unidos e Norte da Europa, e o subtipo 1b embora espalhado pelo mundo inteiro, apresenta uma maior prevalência no Japão (Lavanchy, 2010).

Apesar do genótipo 2 afetar as mesmas regiões que o genótipo 1, incide sobre um número mais reduzido de pessoas (Lavanchy, 2010).

Quanto ao subtipo 3a a sua distribuição é maior no Sul da Ásia e Oceânia, enquanto que na Ásia Oriental o subtipo 3b é relatado como sendo o mais prevalente (Lavanchy, 2010).

Quanto ao genótipo 4 tem uma maior prevalência no Médio Oriente, África central e Europa (Shepard, 2005).

O genótipo 5 é mais frequente na África do Sul, mais especificamente o subtipo 5a., contudo os dados referentes á distribuição deste genótipo apresentam ainda algumas limitações (Shepard, 2005).

No leste e sudeste da Ásia, é encontrado maioritariamente o genótipo 6 (Organização Mundial de Saúde, 2016).

Foi descoberto um novo genótipo, num indivíduo natural do Congo, que se encontrava imigrado no Canadá, designado como subtipo 7a, apesar de ainda não haver grandes publicações acerca deste novo subtipo. (Organização Mundial de Saúde, 2016).

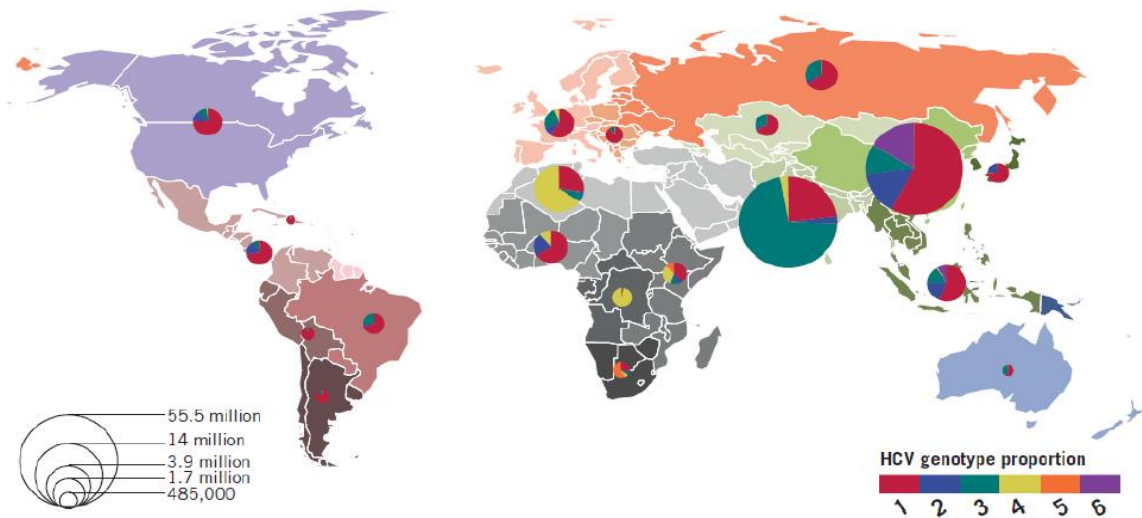


Figura 7: Diferente distribuição dos genótipos do VHC. Adaptado de (Organização Mundial de saúde, 2016)

VI. Resposta do sistema imunitário à infecção pelo VHC

São poucos os indivíduos capazes de eliminar espontaneamente o vírus após infecção por VHC (Kazmierczak, 2016).

A resposta imune inata, que é a primeira linha de defesa contra agentes invasores patogênicos, tem grande importância no controle da evolução da infecção provocada pelo VHC (Ferreira, et al., 2010). Uma vez feito o reconhecimento do VHC, o sistema imune vai desencadear uma série de processos para realizar defesas antivirais, contando para isso com proteínas séricas e receptores de superfície em diversos tipos celulares (Gerold, et al., 2014).

As células têm receptores para o ARN de cadeia dupla e simples, denominados receptores do tipo Toll-TLR e helicases (Ferreira, et al., 2010). Estes receptores após se ligarem à superfície da célula infetada vão induzir a produção de Interferões do tipo I, originando um aumento da expressão de todos os sistemas anti-virais, a produção do Interferão vai provocar um estado de resistência anti-viral (Ferreira, et al., 2010).

No entanto, o sistema imunitário da maior parte dos doentes infetados pelo VHC não tem a capacidade de desenvolver uma resposta imune inata que seja eficaz, e desta forma a infecção apresenta uma enorme tendência de evolução para a forma crônica (Horner; Gale Jr, 2013).

A imunidade adaptativa combate o VHC de duas formas:

- ✓ resposta imune celular;
- ✓ resposta humoral (Heim, 2016).

A imunidade adaptativa contra a infecção pelo VHC é mediada por anticorpos (que impedem a ligação do vírus nas células do hospedeiro, e por Linfócitos T CD4⁺ (linfócitos T helper) e T CD8⁺ (linfócitos T citotóxicos) (Neumann-Haefelin, et al., 2013).

A eliminação espontânea do VHC está diretamente relacionada com a quantidade e atividade de células T CD8⁺ (Neumann-Haefelin, et al., 2013). Ao mesmo tempo as

células T CD4⁺ vão incitar as T CD8⁺ por via de secreção de citocinas, onde se enquadram as IL-6, IFN- γ , TNF (Kazmierczak, 2016).

A imunidade humoral assenta na produção de anticorpos e na ação destes sobre as proteínas estruturais e não estruturais do VHC, no entanto, apenas um número reduzido de anticorpos tem capacidade de inibir o vírus (Heim, 2016).

VII. Transmissão

A principal via de transmissão do HCV é por via parentérica (Hellard, et al., 2015). De acordo com a OMS, as populações que apresentam um maior risco de serem infetadas pelo VHC são: os utilizadores de drogas injetáveis (a prevalência do anticorpo anti-VHC é de aproximadamente 67% entre os UDIs), os recetores de sangue infetado, indivíduos sujeitos a procedimentos invasivos em unidades de saúde com controle inadequado das práticas utilizadas (embora este número varia muito, pois depende do número de vezes que o individuo é exposto a estas situações, e a falta de cuidados nas práticas utilizadas como já referido anteriormente) (Organização Mundial de Saúde, 2016).

Em crianças nascidas de mães infetadas pelo VHC, o risco de transmissão deste vírus está aumentado nos casos de mães infetadas também pelo VIH, estimando-se que nestes casos haja um risco de transmissão que ronda os 10,8 – 25%, (Organização Mundial de Saúde, 2016). A transmissão do VHC de uma mãe portadora deste vírus para o filho durante o parto pode ocorrer, no entanto, só acontece no caso das mulheres com carga vírica positiva (ARN do VHC positivo), no momento do parto, esta transmissão é pouco comum (Hellard, et al., 2015). Aproximadamente 5% dos recém-nascidos de mães com carga vírica positiva contraem a infeção (Society for Maternal-Fetal Medicine, 2017; Watts, et al., 2017; Schillie, et al., 2018).

Nos dias de hoje, após serem implementadas novas práticas a nível de doação de sangue, entre as quais se encontra o teste do VHC aos dadores de sangue, a infeção causada por este vírus em pessoas transfundidas diminuiu (Wasley, et al., 2000; Hellard, et al., 2015).

Como podemos constatar na figura 8 a causa mais comum da infeção por VHC é através do uso de drogas injetáveis, as restantes causas de transmissão apresentam percentagens bastantes mais baixas (Lemon, et al., 2007).

Para prevenir a infeção pelo VHC deve evitar certos comportamentos de risco, tais como:

- ✓ Não partilhar seringas, e outros instrumentos usados na preparação para a administração de drogas injetáveis;

- ✓ Não fazer piercings ou tatuagens, em locais sem licenciamento, e que possam não adotar as medidas de segurança recomendadas;
- ✓ Não deve partilhar lâminas de barbear, corta-unhas, tesouras, ou outros produtos de uso pessoal;
- ✓ Não partilhe a sua escova de dentes;
- ✓ Deve desinfetar possíveis feridas e cobri-las de forma a se proteger e a proteger os outros no caso de estar infetado;
- ✓ O uso do preservativo é essencial durante o sexo, principalmente se não tiver um parceiro fixo;
- ✓ Se apresentar sintomatologia da doença deve procurar o seu médico;
- ✓ Efetuar análises de sangue com regularidade (Roche, 2019).

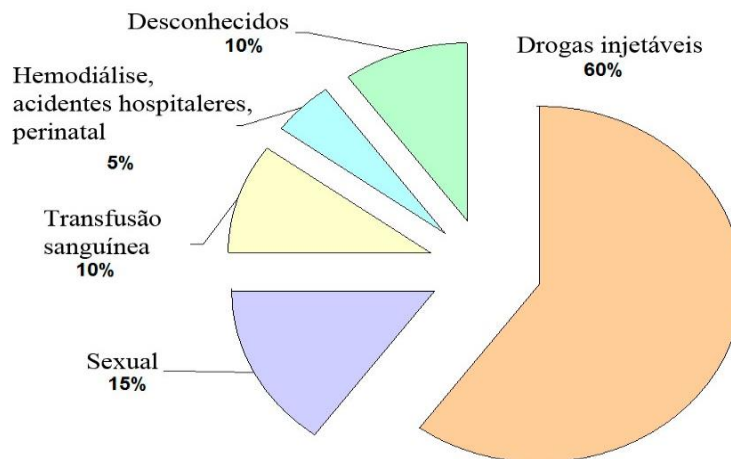


Figura 8: Transmissão do VHC. Adaptado de (Fritzel, 2017).

VIII. Diagnóstico

Com a descoberta e os estudos efetuados ao vírus da hepatite C, foi possível desenvolver imunoenaios e testes de biologia molecular para o diagnóstico da hepatite C.

Os testes serológicos permitem fazer a pesquisa de anticorpo do VHC (anti-VHC) e os testes de biologia molecular fazem a detecção, quantificação do ARN do vírus (Erensoy,2001).

O teste serológico usado habitualmente para fazer o diagnóstico da infecção por VHC, é um teste imunoenzimático (ELISA), que consiste na detecção de anticorpos para o VHC (anti-VHC) (Strauss, 2001). O teste de ELISA com o passar do tempo foi sofrendo alterações apresentando agora uma maior sensibilidade e especificidade (Strauss, 2001). Ainda assim este teste não é muito fiável nos primeiros meses após a contaminação (na fase aguda da doença) podendo dar origem a falsos negativos, no entanto podem dar origem a falsos positivos, acontece quando o valor do anti-VHC apresenta um valor de contaminação baixo (Strauss, 2001).

O teste de ELISA por si só não é suficiente para fazer um diagnóstico do VHC, uma vez que os anticorpos anti-VHC só aparecem algumas semanas após a transmissão viral podendo ir até 6 meses (período de janela imunológica), por isso deve ser efetuado o teste molecular para a detecção do ARN viral, este teste é complexo e mais dispendioso, no entanto é necessário para a confirmação do diagnóstico (Strauss, 2001; Lange, 2016).

Um dos testes de biologia molecular mais usados é a PCR, esta técnica consiste em amplificar parte do genoma do vírus (Strauss, 2001). Como o VHC é um vírus ARN, tem de haver primeiro a conversão do ARN em ADN através de uma enzima (transcriptase reversa) (Gilboa et al., 1979).O teste COBAS® AmpliPrep / COBAS® TaqMan® system baseia-se em quatro passos fundamentais: 1º) ARN viral é extraído (após a extração ocorre a conversão do ARN em ADN); 2º) O ADN obtido liga-se a um “primer” que contém nucleótidos específicos; 3º) ADN sofre amplificação; 4º) É feita detecção do ARN viral. Na figura 9 está representado um gráfico com a curva esperada para um resultado positivo. Caso fosse um resultado negativo a curva vermelha não podia sofrer

amplificação não emitindo fluorescência, concluindo-se a ausência do ARN viral. A curva verde (controlo positivo) está presente em todos os testes de forma a garantir que a partir de um determinado número de ciclos o vírus sofre amplificação, e se o controlo positivo não sofrer amplificação não podemos validar o resultado (Bula dos aparelhos COBAS® AmpliPrep / COBAS® TaqMan® system).

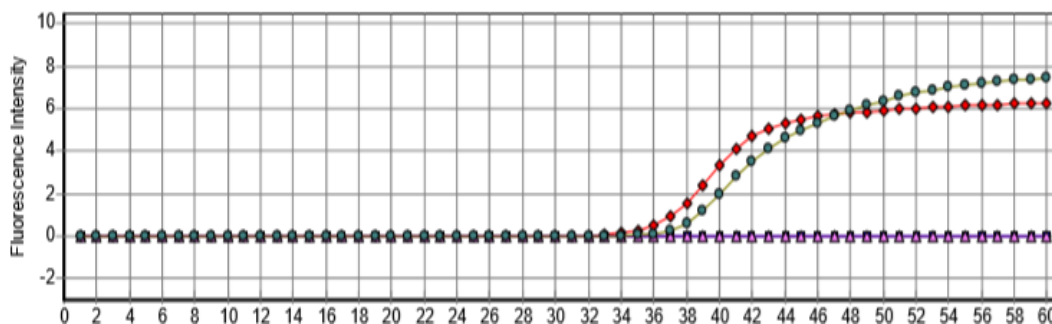


Figura 9: Representação gráfica da deteção do ARN do VHC (resultado positivo). A linha verde representa um controlo positivo sofre amplificação, a curva vermelha representa o ARN do VHC (resultado positivo). Imagem obtida do COBAS® TaqMan® pela autora.

A determinação qualitativa do ARN do VHC é importante para a comprovação do diagnóstico, no entanto, a quantificação da carga viral tem mais importância antes de iniciar o tratamento, assim como durante todo o processo terapêutico de forma a monitorizar a resposta ao tratamento, para avaliar se este está a ser eficaz (Strauss, 2001).

Existem outros sinais de lesão hepática utilizados para o diagnóstico do VHC que devem ser tidos em conta, tais como: o valor das enzimas hepáticas (ALT, AST, FA), que por norma se encontram aumentados em caso de lesão hepática, assim como os valores da bilirrubina total e direta, tempo de protrombina também pode apresentar valores elevados visto se tratar de uma lesão no fígado, proteína total, albumina, hepatoglobulina e hemograma. (Czepiel, 2008).

Relativamente aos resultados obtidos existem várias interpretações possíveis: a) No caso de a pessoa infetada apresentar carga vírica positiva (ARN viral positivo) e o teste serológico negativo (ausência de anticorpos anti-VHC), indica que pode tratar-se de uma infeção aguda; b) Quando temos resultados positivos para ambos os testes (quer para

anticorpo anti-VHC, quer para o ARN viral, não podemos concluir se a infeção é aguda ou crónica, pois temos voltar a avaliar a carga vírica durante os 6 meses seguintes, se esta persistir conclui-se que se trata de uma infeção crónica; c) se o doente apresentar anticorpos anti-VHC, e ausência de ARN viral, poderá indicar que a pessoa já esteve infetada anteriormente pelo VHC e recuperou da infeção (Pawlotsky, et al.,1997).

No fluxograma abaixo está esquematizado de uma forma mais sucinta, como deve ser feito o diagnóstico a uma pessoa que possa ter estado em contato com o vírus (Figura 10).

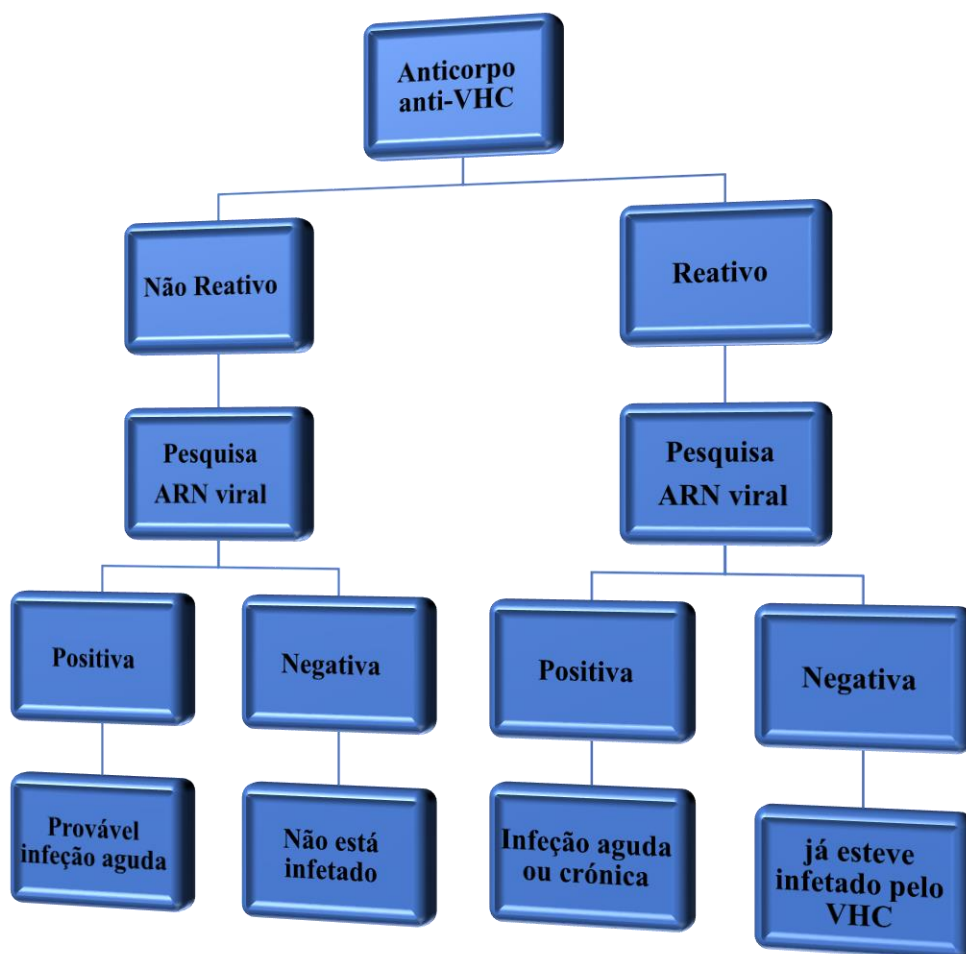


Figura 10: Fluxograma do diagnóstico da infeção pelo VHC. Adaptado de (Pawlotsky, et al.,1997).

Segundo o Despacho de 1 de Março de 2018, publicado a 12 de Março, foram criadas novas formas de rastreio para o vírus do VHC, do VHB do VIH. Para se proceder ao rastreio foram incluídos os testes rápidos, (denominados de testes point of care) nas

farmácias comunitárias e nos laboratórios de análises clínicas. Estes são testes imunocromatográficos, que se baseiam na pesquisa do anticorpo (anti- VHC no caso da hepatite C) (Direção Geral de Saúde, 2018).

A utilização destes testes rápidos, permite que as pessoas recebam os seus resultados rapidamente (aproximadamente trinta minutos após a realização do teste).

No caso de um resultado reativo, o utente deve ser informado que no hospital será feito um teste confirmatório e caso se confirme a infeção, fará mais exames e iniciará tratamento. O tratamento contra o VHC é gratuito (para todos os utentes com inscrição ativa no SNS). Deve também ser fornecida informação sobre tratamentos disponíveis e os seus benefícios. Muito importante também é elucidar o utente sobre formas de prevenção de transmissão das infeções a terceiros.

No caso de um resultado não reativo deve ser explicado o significado do resultado não reativo de forma clara e precisa, e a necessidade de repetir o teste, no caso de exposição recente e /ou risco continuado de exposição (Direção Geral de Saúde, 2018).

IX. Tratamento

A infecção pelo VHC é uma das causas mais relevantes de doença hepática crônica a nível mundial (EASL, 2018). Esta infecção é altamente variável, podendo apresentar desde alterações histológicas simples a fibrose e cirrose, na sua forma mais grave pode evoluir para um carcinoma hepático (EASL, 2018). A boa notícia é que o atendimento clínico a doentes infetados pelo VHC evolui bastante na última década (EASL, 2018).

A terapia contra o VHC, tem como principal propósito a cura da doença provocada por este vírus (EASL, 2018). Esta consiste em obter uma resposta virológica sustentada (RVS) definida como ARN do VHC indetetável por 12 semanas (RVS12), ou 24 semanas (RVS24) após a conclusão do tratamento, e acima de tudo uma RVS corresponde a uma cura da infecção pelo VHC, com uma chance muito baixa de recaída tardia. (EASL, 2018).

De 2014 a 2017, mais de 15 mil doentes iniciaram terapêutica contra a infecção pelo VHC, segundo uma estimativa feita com os resultados obtidos, chegou-se á conclusão de que a taxa de cura ronda os 97%. Houve também uma redução de tratamentos numa fase avançada, nomeadamente doentes com cirrose (Infarmed, 2018).

9.1. Avaliação pré-tratamento

A avaliação do grau de fibrose hepática apresenta grande importância na avaliação de indivíduos com infecção pelo VHC. Embora o tratamento para o VHC deva ser considerado para todas as pessoas infetadas, aquelas que apresentam um quadro de cirrose devem ser priorizadas para tratamento, pois estão com risco aumentado de desenvolver carcinoma hepatocelular (CHC) e morte devido a insuficiência hepática (Organização Mundial de Saúde, 2016). Para além do grau de fibrose devem ser avaliados outros parâmetros, para que a escolha do tratamento seja a mais adequada possível a cada caso. (American Association for the Study of Liver Diseases, 2015). Esses parâmetros incluem, a pesquisa de infecção por outros vírus que afetam o fígado (mais especificamente o VHB e o VIH), o grau de alcoolismo de cada paciente (o paciente deve interromper o consumo total de álcool). Deve também ser avaliada toda a história clínica do doente a fim de perceber se existe alguma doença que possa interferir no tratamento (doenças cardíacas,

doenças renais, diabetes mellitus, obesidade, entre outras (American Association for the Study of Liver Diseases, 2015).

Para a seleção da terapêutica com fármacos de ação direta (DAAs), os pontos mais importantes a ter em consideração são:

- ✓ Tipo de genótipo e subtipo do vírus;
- ✓ Avaliar o grau de cirrose recorrendo para isso à escala de Child-Turcotte-Pugh (CTP) (tabela 1);
- ✓ Saber se o paciente já foi submetido a algum tratamento contra a infeção pelo VHC (Kasper, et al., 2016; Cheung, et al., 2016; Butt, et al., 2017).

A classificação de Child-Turcotte-Pugh, é utilizada para fazer a avaliação da doença hepática crónica, mais especificamente para fazer o estadiamento da cirrose hepática. Esta classificação tem como objetivo dividir a doença hepática crónica em três classes diferentes (classe A,B ou C).Esta divisão é feita através de um sistema de pontuação que varia de 5-15 pontos, fazendo a avaliação de 5 critérios (encefalopatia, bilirrubina sérica, albumina sérica, ascite e o tempo de protrombina), o cálculo é efetuado através das pontuações dadas a cada critério avaliado, consoante o que é observado, no caso da encefalopatia se o doente apresenta ou não determinado comportamento (leve confusão, ou completamente apático), e consoante essas observações é atribuída uma pontuação, isto é feito para cada um dos 5 critérios, no final a soma dos pontos vai indicar qual o estadiamento da cirrose. Se estiver entre os 5-6 pontos situa-se na classe A; 7-9 pontos situa-se a classe B e de 10-15 pontos situa-se a classe C (Tabela 1) Esta classificação permite antever possíveis complicações que possam ocorrer devido á cirrose, como a peritonite bacteriana espontânea e o sangramento de varizes (Kasper, et al., 2016; Cheung, et al., 2016; Butt, et al., 2017).

Tabela 1: Classificação de Child-Turcotte-Pugh. Adaptado de (Kasper, et al., 2016).

Critério	Unidades	Pontuação		
		1	2	3
Bilirrubina Sérica	µmol/L	<34	34-51	>51
	mg/dL	<2.0	2.0-3.0	>3.0
Albumina Sérica	g/L	>35	30-35	<30
	g/dL	>3.5	3.0-3.5	<3.0
Tempo de Protrombina	segundos prolongados ou Índice Normalizado Internacional (INR)	<4	4-6	>6
		<1.7	1.7-2.3	>2.3
Ascite		Inexistente	Fácil controle	Difícil controle
Encefalopatia hepática		Inexistente	Irrelevante	Desenvolvida

9.2. Requisitos para realizar o tratamento

De acordo com a norma nº 028/2017 de 28/12/2017 emitida pela Direção Geral de Saúde (2017, p. 1) devem ser abrangidos para o tratamento da Hepatite C, “(...) pessoas com idade igual ou superior a 18 anos com infeção crónica, com ou sem experiência terapêutica causada pelos genótipos 1 a 6.” (Direção Geral de Saúde, 2017).

Apresentam requisitos para a realização do tratamento antiviral contra o VHC todos os infetados que apresentem a doença hepática crónica, quer na forma compensada ou descompensada, que nunca tenham sido sujeitos a nenhuma terapêutica, ou que já tenham sido submetidos a tratamentos sem sucesso. É importante salientar que todos aqueles que apresentem uma esperança de vida curta e que esta situação não possa ser remediada pela terapia ou por transplante hepático devem ser acompanhados por um especialista de forma a amenizar os efeitos da doença (Viner, et al., 2014).

9.3. Fármacos e tratamentos usados

A evolução terapêutica para a hepatite C ocorreu em meados da década de 80, quando se testou o primeiro medicamento, denominando INF (Butt, et al., 2017). O INF α , foi o primeiro medicamento a ser usado em tratamentos, sendo a forma mais eficaz para o tratamento de hepatite C crônica (Butt, et al., 2017).

O avanço nesta área foi devido ao desenvolvimento e conhecimento da estrutura molecular das proteínas essenciais da replicação deste vírus, permitindo, deste modo, desenvolver novos fármacos. Em 1998, foram adicionadas outras terapias, onde se iniciaram as combinações, tendo sido incorporada a junção do INF α e a Ribavirina, obtendo uma resposta de 41% de sucesso para pacientes que não fossem tratados de imediato e 49% para casos que eram reincidentes. Esta terapia foi estabelecida como terapia padrão (Davis, 1989; McHutchison, 1998).

Posteriormente foi desenvolvido o IFN com o acréscimo de uma molécula de polietilenoglicol (PEG-IFN). As diferenças que este apresenta confere-lhe propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas diferentes, sendo que o PEG-IFN apresenta absorção subcutânea mais lenta e uma diminuição da clearance renal, originando desta forma o aumento do tempo de semi-vida. A resposta virológica sustentada (RVS) aumentou significativamente no final dos anos 90 com a adição de Ribavirina a um interferão e melhorou ainda mais com o uso de PEG-IFN juntamente com a Ribavirina (Alberti & Benvegna, 2013).

Foram relatadas contraindicações ao uso do IFN, das quais se destacam, estados depressivos, psicoses graves, convulsões, neutropenia, trombocitopenia, fadiga, distúrbios gastrointestinais, alterações dermatológicas (rash cutâneo, queda de cabelo), hipo ou hipertiroidismo, diabetes, insuficiência renal, arritmias entre outros. No caso da Ribavirina também foram observados efeitos adversos, tais como, anemia hemolítica, cefaleias, insónias, congestão nasal, tosse, prurido, abortos ou má formação congênita no caso de gravidez (Strauss, 2001). A Ribavirina chega à parte interna de todo o tipo de células, atingindo também óvulos e espermatozoides, por isso um dos efeitos secundários possíveis é a teratogenia. Os efeitos provocados por esta droga só desaparecem 6 meses após a sua descontinuação. (Strauss, 2001).

O objetivo das drogas de ação direta, é inibir a replicação do ARN viral, tendo como principal alvo as proteínas não estruturais do vírus. Como já foi referido ao longo deste trabalho o genoma do VHC tem uma elevada capacidade de sofrer mutações, desta forma podem criar resistência a estes novos fármacos. Devido ao fato de aparecerem resistências estas DAAs devem ser usadas em combinação com outros fármacos e nunca em monoterapia (Maekawa, 2016).

Em pacientes com infecção pelo genótipo 1 ou 4 tratados com interferão peguilado / ribavirina, a taxa de RVS foi de 46,9%. Para pacientes tratados com esquemas combinados interferon peguilado / ribavirina com um DAA, as taxas de RVS combinadas estavam entre 66,4% e 90,2% (Organização Mundial de Saúde, 2016).

NS5A é uma proteína não estrutural com aptidão para criar um complexo de replicação juntamente com outros componentes virais. Os inibidores desta proteína atuam inibindo a mesma, visto que a proteína NS5A apresenta uma elevada atividade antiviral, os inibidores desta proteína são uma escolha de primeira linha para serem utilizados juntamente com outras drogas de ação direta (Maekawa, 2016). Contudo existem doentes que apresentam mutações a nível da proteína NS5A (genótipo 1b) diminuindo o sucesso da terapêutica com estes inibidores (Maekawa, 2016).

Atualmente estão descritos dois grupos distintos de inibidores da polimerase os NIs, e os NNIs. Os inibidores de nucleótidos atuam através de um processo mimético, isto é, imitam os nucleótidos naturais, apresentando desta forma a capacidade de se incluir no ARN alongado, levando ao término da cadeia (Sofosbuvir). Como a região ativa da NS5B possui elevada conservação, estes fármacos são recomendados para os diferentes genótipos do VHC (American Association for the Study of Liver Diseases, 2015).

Por outro lado, existem os NNIs que têm como função anular a atividade da NS5B (Dasabuvir e Beclabuvir). Esta polimerase apresenta no mínimo cinco locais alostéricos que não são rigorosamente conservados. Devido ao fato de apresentarem uma reduzida barreira genética, estes fármacos devem ser utilizados em multi-combinação com outras drogas de ação direta de classes diferentes (American Association for the Study of Liver Diseases, 2015).

Já estão aprovadas algumas drogas de ação direta para a terapia da infecção pelo VHC. Estas estão agrupadas de acordo com a função que exercem. (Ordem dos Farmacêuticos, 2016). Existem os inibidores da protease NS3/4A (Boceprevir, Telaprevir, Simeprevir, Paritaprevir, Grazoprevir), os inibidores da protease NS5A (Ledipasvir, Ombitasvir, Daclatasvir, Elbasvir), os inibidores da polimerase NS5B (Sofosbuvir, Dasabuvir), promotor dos inibidores da protease (Ritonavir) e Análogos da guanósina (Ribavirina) (Ordem dos Farmacêuticos, 2016).

O Boceprevir é um inibidor da protease que se liga reversivelmente a uma proteína não estrutural do VHC, a proteína NS3, inibindo assim a replicação do vírus (Venkatraman et al., 2006).

O Telaprevir é um inibidor oral da protease do VHC NS3/4A, que vai bloquear a ação desta enzima, impedindo a replicação do vírus no hospedeiro (Ghany et al., 2011).

Tanto o Telaprevir como o Boceprevir, devem ser utilizados com a terapia standard para evitar resistências que possam resultar dos inibidores da protease (Kanda et al., 2014).

O surgimento de inibidores da protease de segunda geração vieram colmatar a ineficácia dos de primeira, como é o caso do Simeprevir, e Asunaprevir (Pawlotsky, 2014).

O Simeprevir é um inibidor da protease NS3/4A, de segunda geração, apresentando um mecanismo de ação idêntico ao Boceprevir e ao Telaprevir, sendo ativo para os genótipos 1, 4 e 6. A sua administração pode ser efetuada uma vez por dia e em associação com PegINF e RBV. Tem como efeitos adversos principais as lesões na pele, com ou sem prurido, náuseas e dispneia. É um fármaco mais seguro relativamente aos de primeira geração (Ordem dos Farmacêuticos, 2016).

É recomendada a administração de uma terapia tripla de Simeprevir com Ribavirina e PEG-IFN, durante 24 semanas (com descontinuação do Simeprevir às 12 semanas) em doentes com genótipo 1b, ou nos que têm genótipo 1a sem a mutação Q80K que origina uma pré-resistência ao Simeprevir (Ordem dos Farmacêuticos, 2016).

Após a descoberta de inibidores da protease de segunda geração, os de primeira geração deixaram de ser aconselhados, pois não são tão eficazes, provocam efeitos adversos menos toleráveis e exigem um tratamento mais longo (Lin e Chung, 2014).

Apesar do Telaprevir, Boceprevir e o Simeprevir aumentarem percentagem da RVS em pacientes com infecção no genótipo 1, o mesmo não acontece nos outros genótipos, sendo necessários outras DAAs no sentido de dar resposta aos doentes que não tenham obtido uma resposta positiva com os inibidores da protease. Surgiram então outros DAAs que inibem outras proteínas do VHC, como o Daclastavir e Sofosbuvir (Sulkowski et al., 2014).

O Daclastavir tem como função a inibição do complexo de replicação NS5A e o Sofosbuvir é um nucleótido análogo do inibidor de polimerase NS5B, dois fármacos com elevada atividade antiviral, que apresentam elevadas taxas de RVS em diferentes genótipos (Sulkowski et al., 2014).

O Daclatasvir é um inibidor da polimerase NS5A. O Daclatasvir tem elevada atividade nos genótipos 1 e 4 in vivo e genótipos 5 e 6 in vitro. A sua barreira genética ao aparecimento de resistência é relativamente baixa. A associação com PegINF e RBV não agravou os efeitos adversos (Ordem dos Farmacêuticos, 2016).

O Sofosbuvir é o primeiro inibidor da polimerase NS5B, uma enzima envolvida na replicação do VHC, ligando-se ao local catalítico da polimerase de ARN causando a terminação da cadeia (Noell et al., 2015; Kumar e Jacobson, 2014). Exerce uma ação sobre todos os genótipos virais do VHC, e apresenta uma elevada barreira genética ao aparecimento de resistência, não tendo sido reportada resistência cruzada com outras substâncias (Lawitz et al., 2013; Velosa et al., 2014). No entanto, a atividade do Sofosbuvir no genótipo 3 é menos eficaz face aos restantes (Kumar e Jacobson, 2014).

O Ledipasvir é um inibidor da polimerase NS5A com atividade antivírica principalmente no genótipo 1 e parcialmente nos genótipos 4 a 6. Apenas se encontra disponível em combinação fixa com o Sofosbuvir. Tem como principais efeitos adversos reportados cefaleias e a fadiga. Foram detetadas mutações de resistência durante o tratamento, mas

sem consequência clínica devido à associação com o Sofosbuvir (Ordem dos Farmacêuticos, 2016).

De acordo com o Infarmed (2018, p. 2) “(...) atualmente estão disponíveis sete medicamentos de última geração no mercado, incluindo pangenotípicos – indicados para todos os tipos de vírus da hepatite C.”

A seleção do esquema terapêutico deve ter em atenção os seguintes parâmetros:

- ✓ O genótipo do VHC e subtipo;
- ✓ O ARN-VHC quantitativo;
- ✓ A existência ou não de terapêutica prévia;
- ✓ A existência ou não de insuficiência renal;
- ✓ A existência ou não de cirrose hepática compensada ou descompensada, com ou sem indicação para transplante (Infarmed, 2018)

Tabela 2: Resumo de esquemas recomendados e duração de tratamento em indivíduos que não apresentam cirrose. Adaptado de (OMS, 2016).

	Daclatasvir Sofosbuvir	Ledipasvir Sofosbuvir	Sofosbuvir Ribavirina
Genótipo 1	12 semanas	12 semanas	
Genótipo 2			12 semanas
Genótipo 3	12 semanas		24 semanas
Genótipo 4	12 semanas	12 semanas	
Genótipo 5		12 semanas	
Genótipo 6		12 semanas	

Tabela 3: Resumo de esquemas recomendados e duração de tratamento em indivíduos com cirrose. Adaptado de (OMS, 2016).

	Daclatasvir Sofosbuvir	Daclatasvir Sofosbuvir Ribavirina	Ledipasvir Sofosbuvir	Ledipasvir Sofosbuvir Ribavirina	Sofosbuvir Ribavirina
Genótipo 1	24 semanas	12 semanas	24 semanas	12 semanas	
Genótipo 2					16 semanas
Genótipo 3		24 semanas			
Genótipo 4	24 semanas	12 semanas	24 semanas	12 semanas	
Genótipo 5			24 semanas	12 semanas	
Genótipo 6			24 semanas	12 semanas	

Tabela 4: Resumo de esquemas alternativos e duração de tratamento em indivíduos que não apresentam cirrose. Adaptado de (OMS, 2016).

	Simeprevir Sofosbuvir	Daclatasvir Sofosbuvir	Ombitasvir Paritaprevir Ritonavir Dasabuvir	Ombitasvir Paritaprevir Ritonavir Ribavirina	Sofosbuvir Interferão peguilado Ribavirina
Genótipo 1	12 semanas		12 semanas		
Genótipo 2		12 semanas			
Genótipo 3					
Genótipo 4	12 semanas			12 semanas	
Genótipo 5					12 semanas
Genótipo 6					12 semanas

Tabela 5: Resumo de esquemas alternativos e duração de tratamento em indivíduos com cirrose. Adaptado de (OMS, 2016).

	Daclatasvir Sofosbuvir	Simeprevir Sofosbuvir	Simeprevir Sofosbuvir Ribavirina	Ombitasvir Paritaprevir Ritonavir Dasabuvir	Ombitasvir Paritaprevir Ritonavir Ribavirina	Sofosbuvir Interferão peguilado Ribavirina
Genótipo 1		24 semanas	12 semanas	24 semanas		
Genótipo 2	12 semanas					
Genótipo 3						12 semanas
Genótipo 4		24 semanas	12 semanas		24 semanas	
Genótipo 5						12 semanas
Genótipo 6						12 semanas

Se o paciente infetado pelo genótipo 1a apresentar a mutação Q80K, um regime de simeprevir / sofosbuvir não deve ser escolhido (OMS, 2016).

Para pacientes infetados pelo genótipo 1a, devem ser administrados ombitasvir / paritaprevir / ritonavir / dasabuvir e ribavirina durante 24 semanas. Em pacientes infetados pelo genótipo 1b, devem ser administrados ombitasvir / paritaprevir / ritonavir / dasabuvir e ribavirina durante 12 semanas (OMS, 2016).

Daclatasvir/Sofosbuvir: Pode ser prescrito para pessoas com cirrose compensada ou descompensada (OMS, 2016).

Os restantes esquemas apenas devem ser prescritos a pessoas com cirrose compensada, pois podem causar insuficiência hepática e até mesmo levar à morte quando prescritos a pessoas com cirrose descompensada. Deste modo, eles devem ser usados somente na presença de cuidados especializados e onde o grau de cirrose (compensado/descompensado) possa ser avaliado com precisão (OMS, 2016).

A seleção de esquemas adequados e alternativos é ainda complexa, no entanto, os esquemas recomendados nestas diretrizes são um passo para a escolha de um regime terapêutico único para todos os genótipos e para todos os pacientes, independentemente do grau de cirrose e tratamento prévio (OMS, 2016). Apesar dos avanços, as implementações dessas recomendações podem não ser imediatas, além dos altos preços, estes medicamentos ainda não receberam aprovação regulamentar em muitos países (OMS, 2016).

Através de dados do Portal da Hepatite C, segundo o Infarmed (2018, p. 1) “(...) até 14 de fevereiro foram autorizados 18929 tratamentos em todo o País, a maior parte dos quais a doentes do sexo masculino (73%) (...)”. Na figura 11 podemos verificar o número dos tratamentos que foram autorizados, iniciados e concluídos, desde 17 de fevereiro de 2015, altura em que surgiram os primeiros fármacos de ação direta aprovados em Portugal para a infeção do VHC (Infarmed, 2018). De acordo com a presente norma, não deve ser efetuado tratamento para o VHC em pessoas com doenças não associadas a doença hepática, de elevada gravidade e que condicionam a sobrevivência da pessoa, assim como pessoas com carcinoma hepatocelular com indicação para tratamento paliativo (Direção Geral de Saúde, 2017).

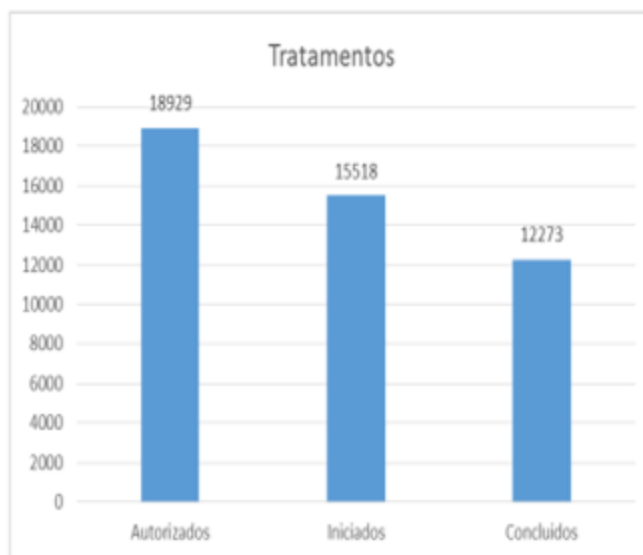


Figura 11: Tratamentos do VHC aprovados. Adaptado de (Infarmed, 2018).

X. Conclusão

Com este trabalho, pretendia-se fazer um ponto da situação relativamente ao diagnóstico e terapia da infeção provocada pelo VHC.

A dificuldade de desenvolver uma vacina, e de encontrar medidas para combater a infeção pelo VHC prende-se com o fato deste vírus apresentar capacidade de formar *quasispecies* e de possuir uma enorme variabilidade genética, possuindo vários genótipos e subtipos.

Dados epidemiológicos confiáveis são essenciais para o planeamento de programas de saúde, facilitando a ampliação do tratamento da hepatite C. É importante saber o número de pessoas infetadas e que estão a morrer de doença hepática relacionada a este vírus. A revisão de literatura mostra uma grande evolução nesta área, devido ao esforço de várias equipas de investigação científica.

A terapia convencional apresenta resultados relativamente satisfatórios, contudo esta terapia (IFN juntamente com a ribavirina), provoca efeitos adversos acentuados.

Com a introdução das DAAs no regime terapêutico passou a obter-se taxas de RVS com percentagens mais elevadas, estes novos fármacos trouxeram uma maior esperança para a cura desta infeção, mas é necessário referir que estes tratamentos tem elevado impacto na sustentabilidade do SNS, pois são tratamentos muito caros, e todos os testes realizados são também de custo elevado

A melhor forma de prevenção é a educação na saúde, pois a informação sobre os riscos da doença e quais as suas formas de transmissão são fundamentais para que a população evite contrair o VHC. A Associação Portuguesa de Hemofilia criou recentemente um gabinete para ajudar os doentes de Hepatite C e as suas famílias a viverem com a infeção e prevenir o seu contágio.

Mesmo com todo o progresso que tem ocorrido nesta área, ainda existem vários doentes que não conseguem ter acesso ao tratamento, e por isso é fundamental que se continue a lutar por esta causa, principalmente em países subdesenvolvidos.

XI. BIBLIOGRAFIA

- Alberti, A. e Benvegno, L. (2003). Management of hepatitis C. *J Hepatol*, 38 (1), pp. 104-118.
- Alter, M. (2007). Epidemiology of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*, pp. 2436–2441.
- Aman, A. (2012). Current status and future directions in the management of chronic hepatitis C. *Virology Journal*, pp. 9-57.
- American Association for the Study of Liver Diseases. (2015). Hepatitis C guidance: AASLD-IDS recommendations for testing, managing, and treating adults infected with hepatitis C virus. *Hepatology*, 62(3), pp. 932-954.
- Anjo, J., et alii. (2014). O impacto da hepatite C em Portugal. *Jornal Português de gastroenterologia*, 21(2), pp. 44-54.
- Araújo, E., et alii. (2008). Consenso da Sociedade Brasileira de Infectologia para o Manuseio e Terapia da Hepatite C. *Sociedade Brasileira de Infectologia*, pp. 20-82.
- Bartenschlager, R., Cosset, F. e Lohmann, V. (2011). Hepatitis C virus replication cycle. *Journal of Hepatology*, 53, pp. 583–585.
- Bennett, F., Huang, Y. e Hendrata, S. (2010). The introduction of P4 substituted 1-methylcyclohexyl groups into Boceprevir: a change in direction in the search for a second generation HCV NS3 protease inhibitor. *Bioorg: Med Chem Lett*, 20, pp. 2617–2621.
- Buonaguro, L., et alii. (2012). Innate immunity and hepatitis C virus infection: a microarray's view. *Infect Agent Cancer*, 7, pp. 7.
- Butt, AA., et alii. (2017). Comparing Child-Pugh, MELD, and FIB-4 to Predict Clinical Outcomes in Hepatitis C Virus-Infected Persons: Results From ERCHIVES. *Clinical Infectious Diseases*, 65 (1), pp. 64-72.
- Chebaliez, S. (2007). Hepatitis C virus: virology, diagnosis and management of anti-viral therapy. *World J Gastroenterol*, 13, pp. 2461-2466.
- Cheung, M., Walker, A. e Hudson, B. (2016). Outcomes after successful direct-acting antiviral therapy for patients with chronic hepatitis C and decompensated cirrhosis. *Journal of Hepatology*, 65, pp. 4.
- Choo, Q.L., et alii. (1989). Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*, 244, pp. 359–362.
- Czepiel, J. (2008). Viral hepatitis C. *Pol Arch Med Wewn*, 118, pp. 734-740.

- Direção Geral de Saúde. (2016). Hepatite C. Disponível. [Em linha]. Disponível em <<https://www.dgs.pt/em-destaque/hepatite-c.aspx>>. [Consultado em 26/08/2019].
- Direção Geral de Saúde. (2017). Tratamento da Hepatite C Crónica no Adulto. [Em linha]. Disponível em <<https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0282017-de-28122017-pdf.aspx>>. [Consultado em 26/08/2019].
- Direção Geral de Saúde. (2017). Avaliação Diagnóstico da Infecção por Vírus da Hepatite C. [Em linha]. Disponível em <<https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0272017-de-28122017-pdf.aspx>>. [Consultado em 03/08/2019].
- Direção Geral de Saúde. (2018). Realização de testes rápidos (testes point of care) de rastreio de infeções por VIH, VHC e VHB nas farmácias comunitárias e nos laboratórios de patologia clínica/análises clínicas (Despacho n.º 2522/2018). [Circular normativa conjunta]. [Em linha]. Disponível em <<https://www.pnvihsida.dgs.pt/ficheiros-externos-geral/circular-normativa-testes-rapidos-pdf.aspx>>. [Consultado em 03/09/2019].
- Davis, G. (1989). Treatment of Chronic Hepatitis C with Recombinant Interferon Alfa. *The New England Journal of Medicine*, 321, pp. 1501-1506.
- DeWolfe, M. (2010). Evidence of intense ongoing endemic transmission of hepatitis C virus in Egypt. *PNAS*, 107(33), pp. 14757-14762.
- Echeverría, N. (2015). Hepatitis C virus genetic variability and evolution. *World Journal of Hepatology*, 7(6), pp. 831-845.
- Erensoy, S. (2001). Diagnosis of hepatitis C virus (HCV) infection and laboratory monitoring of its therapy. *J Clin Virol*, 21(3), pp. 271-281.
- European Association for the Study of the Liver. (2018). EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C. *Journal of Hepatology*, pp. 1–51.
- Felmlee, D.J., Hafirassou, M.L. e Lefevre, M. (2013). Hepatitis C virus, cholesterol and lipoproteins - impact for the viral life cycle and pathogenesis of liver disease. *Viruses*, 5(5), pp. 1292-1324.
- Ferreira, W., et alii. (2010). *Microbiologia*. Lisboa – Porto, Lidel – edições técnicas, lda.
- Forns, X. (2018). Treatment of chronic hepatitis C. *Journal of Hepatology*, 69, pp. 544-546.
- Freiman, J. (2016). Hepatitis C Core Antigen Testing for Diagnosis of Hepatitis C Virus Infection: A Systematic Review and Meta-analysis. *Ann Intern Med*, 165(5), pp. 345-355.

- Fritzel, J. (2017). Hepatitis C Virus: Transmission, Causes & Symptoms. [Em linha]. Disponível em <<https://study.com/academy/lesson/hepatitis-c-virus-transmission-causes-symptoms.html>>. [Consultado em 03/08/2019].
- Gerold, G. e Pietschmann, T. (2014). The HCV life cycle: in vitro tissue culture systems and therapeutic targets. *Dig Dis*, 32, pp. 525-537.
- Ghany, M., et alii. (2011). Na Update on Treatment of Genotype 1 Chronic Hepatitis C Virus Infection: 2011 Practice Guideline by the American Associations for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*, 54(4), pp. 1433-1444.
- Ghasemi, F., Rostami, S. e Meshkat, Z. (2015). Progress in the development of vaccines for hepatitis C virus infection. *World Journal of Hepatology*, 21(42), pp. 11984-12002.
- Gilboa, E., et alii. (1979). A detailed model of reverse transcription and tests of crucial aspects. *Cell*, 18 (1), pp. 93-100.
- Gower, E., et alii. (2014). Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *Journal of Hepatology*, 61(1), pp. 45-57.
- Gu, M. e Rice, C. (2013). Structures of hepatitis C virus nonstructural proteins required for replicase assembly and function. *Current Opinion in Virology*, 3(2), pp. 129-136.
- Heim, M.H. (2016). Innate and adaptive immune responses in HCV infections. *Journal of Hepatology*, 61(1), pp. 14-25.
- Hellard, M., et alii. (2015). Hepatitis C transmission and treatment as prevention – The role of the injecting network. *Internation Journal of Drug Policy*, 26, pp. 958-962.
- Hoofnagle, J. (2002). Course and Outcome of Hepatitis C. *Hepatology*, 36(1) pp. 21-29.
- Horner, S. M. e Gale JR, M. (2013). Regulation of hepatic innate immunity by hepatitis C virus. *Nat Med*, 19(7), pp. 879–888.
- Infarmed. (2018). Quinze mil doentes já iniciaram tratamento para a hepatite C. [Em linha]. Disponível em <<https://www.infarmed.pt/documents/15786/1879176/Comunicado%2b%2bQuinze%2bmil%2bdoentes%2bj%2b%2b%2biniciaram%2btratamento%2bpara%2ba%2bhepatite%2bc/690bd3dc-5299-4d55-a951-d1399cd70459>>. [Consultado em 03/10/2019].
- Infarmed. (2018). Tratamentos para hepatite C em fases mais precoces e mais de dez mil doentes curados. [Em linha]. Disponível em <<https://www.infarmed.pt/documents/15786/1879176/Tratamentos%2bpara%2bhepatite%2bC%2bem%2bfases%2bmais%2bprecoces%2b%2be%2bmais%2bde%2bdez%2bmi%2bdoentes%2bcurados/2ba3b207-c415-4f6d-b2aa-d8c635c97f47>>. [Consultado em 13/09/2019].

- Instituto Nacional de Estatística. (2009). Indicadores Sociais. [Em linha]. Disponível em <http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOE_Spub_boui=105186688&PUBLICACOESmodo=2>. [Consultado em 03/08/2019].
- Jirasko, V., et alii. (2010). Structural and Functional Studies of Nonstructural Protein 2 of the Hepatitis C Virus Reveal Its Key Role as Organizer of Virion Assembly. *PLoS Pathogens*, 6(12).
- Jones, C.T., et alii. (2007). Hepatitis C virus p7 and NS2 proteins are essential for production of infectious virus. *Journal of Virology*, 81, pp. 8374–8383.
- Jones, D., et alii. (2008). The Hepatitis C Virus NS4B Protein Can trans-Complement Viral RNA Replication and Modulates Production of Infectious Virus. *Glasgow: Journal of Virology*, 83(5), pp. 2163-2177.
- Kalinina, O. e Dmitriev, A.V. (2015). Structural and Functional Genome Organization and Life Cycle of Hepatitis C Virus. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 30(2), pp. 64–70.
- Kamili, S., et alii. (2012). Laboratory Diagnostics for Hepatitis C Virus Infection. *Clinical Infectious Diseases*, 55(1), pp. 43-48.
- Kanda, T., et alii. (2014). Direct-acting Antiviral Agents for the Treatment of Chronic Hepatitis C Virus Infection. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, 2, pp. 1-6.
- Kasper, D., Hauser, S. e Fauci, A. (2016). Harrison's Principles of Internal Medicine. 19th ed. Hill.
- Kazmierczak, J. (2016). Virus-Specific Cellular Response in Hepatitis C Virus Infection. *Warsz: Arch Immunol Ther Exp*, 64(2), pp. 01-10.
- Kim, C. e Chang, K. (2013). Hepatitis C virus: virology and life cycle. *Clin Mol Hepatol*, 19(1), pp. 17-25.
- Kohli, A. (2014). Treatment of Hepatitis C - A Systematic Review. *JAMA*, 312(6), pp. 631-640.
- Kupfer, B. (2016). HCV Virology. *Verlag MF*, editor, 6, pp. 1-9.
- Kupfer B. (2018). Hepatology. *Verlag MF*, editor, 9, pp. 6-12.
- Kumar, S. e Jacobson, I.M. (2014). Antiviral therapy with nucleotide polymerase inhibitors for chronic hepatitis c. *Journal of Hepatology*, 61, pp. 91-97.
- Lange, C. (2016). Hepatitis C: Diagnostic Tests. *Verlag MF*, 7.
- Lavanchy, D. (2009). The global burden of hepatitis C. *Liver International*, 29, pp. 74-81.

- Lavanchy, D. (2010). Evolving epidemiology of hepatitis C virus. *Clinical Microbiology and Infection*, 55(1), pp. 3-9.
- Lavanchy, D. (2011). Evolving epidemiology of hepatitis C virus. *Clin Microbiol Infect*, 17(2), pp. 107-115.
- Lawitz, E., et alii. (2013). Sofosbuvir for Previously Untreated Chronic Hepatitis C Infection. *The New England Journal of Medicine*, 368, pp. 1878-1887.
- Le Guillou-Guillemette, H. e Vallet, S. (2007). Genetic diversity of the hepatitis C virus: impact and issues in the antiviral therapy. *World J Gastroenterol*, 13(17), pp. 2416-2426.
- Lemon, M., Alter, M.J. e Walker, C. (2007). Virology. *Lippincott Williams & Wilkins*, 1, pp. 25-67.
- Li, H.C. e Lo, S.Y. (2015). Hepatitis C virus: Virology, diagnosis and treatment. *World J Hepatol*, 7(10), pp. 1377-1389.
- Lin, M.V. e Chung, R. (2014). Recent FDA Approval of Sofosbuvir and Simeprevir Implications of Current HCV Treatment. *Clinical Liver Disease*, 3(3), pp. 65-68.
- Lindenbach, B. e Rice, C. (2013). The ins and outs of hepatitis C virus entry and assembly. *Nature Reviews Microbiology*, pp. 688-700.
- Locker, N. (2007). HCV and CSFV IRES domain II mediate eIF2 release during 80S ribosome assembly. *Embo journal*, 26(3), pp. 795-805.
- Lohmann, V. (2003). Viral and cellular determinants of hepatitis C virus RNA replication in cell culture. *Journal of Virology*, 77, pp. 3007-3019.
- Maekawa, S. (2016). Viral Variation and Response to Therapy. *Hepatitis C Virus II*, pp 243-256.
- Marinho, R. (2016). Hepatite C. *Sociedade Portuguesa de Gastreenterlogia*, pp. 1-26.
- McHutchison, J. (1998). Interferon Alfa-2b Alone or in Combination with Ribavirin as Initial Treatment for Chronic Hepatitis C. *The New England Journal of Medicine*, 339, pp. 1485-1492.
- Messina, J. e Humphreys, I. (2015). Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*, 61(1), pp. 77-87.
- Moradpour, D. (2013). Hepatitis C virus proteins: from structure to function. *Curr Top Microbiol Immunol*, 369, pp. 113-42.
- Moradpour, D., Penin, F. e Rice, C. (2007). Replication of hepatitis C virus. *Nature Reviews Microbiology*, 5, pp. 453-463.
- Munir, S. (2010). Treatment: current and future perspectives. *Virology Journal*, pp. 7-296.

- Myrmel, H. (2009). The hepatitis C virus enigma. *Journal Compilation*, 117, pp. 427-439.
- Neumann-Haefelin, C. e Thimme, R. (2013). Adaptive immune responses in hepatitis C virus infection. *Curr Top Microbiol Immunol*, 369, pp. 43-62.
- Nicks, B.A. (2017). Hepatite C oculta: pouco reconhecida, subdiagnosticada e insuspeita. *Medscape*, pp. 1-17.
- Niepmann, M. (2013). Hepatitis C virus RNA translation. *Curr Top Microbiol Immunol*, 369, pp. 43-66.
- Noell, B.C., Besur, S.V. e deLemos, A.S. (2015). Changing the face of hepatitis C management – the design and development of sofosbuvir. *Drug Design, Development and Therapy*, 9, pp. 2367-2374.
- Ordem dos Farmacêuticos. (2016). Tratamento da Hepatite C crónica. [Em linha] Disponível em https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/publicacoes/bol_jan_mar16_9454483425941281d26d4e.pdf?fbclid=IwAR2sT0uoQqyJ_8PmQrP24H7Kh4XJBQ9wD-sfZG74FOHmZtcjSY_LTbJ8MSY. [Consultado em 06/09/2019].
- Organização Mundial de Saúde. (2016). Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. *Geneva, Switzerland*, pp. 1-140.
- Organização Mundial de Saúde. (2017). Global Hepatitis Report. *WHO*, pp.1-83.
- Pawlotsky, J., et alii. (1997). Serological determination of hepatitis C virus genotype: comparison with a standardized genotyping assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 35, pp. 1734-1739.
- Pawlotsky, J. (2014). New Hepatitis C Treatment: The toolbox, Strategies, and Challenges. *Gastroenterology*, 146, pp. 1176-1192.
- Phan, T. (2011). The acidic domain of hepatitis C virus NS4A contributes to RNA replication and virus particle assembly. *Journal of Virology*, 85, pp. 1193-1204.
- Platt, L. (2017). Needle syringe programmes and opioid substitution therapy for preventing hepatitis C transmission in people who inject drugs. *Cochrane Database of Systematic Reviews*.
- Rai, R. e Deval, J. (2011). New opportunities in anti-hepatitis C virus drug discovery: targeting NS4B. *Antiviral Res*, 90, pp. 93-101.
- Rehermann, B. (2009). Hepatitis C virus versus innate and adaptive immune responses: a tale of coevolution and coexistence. *J Clin Invest.*, 119(7), pp. 1745-1754.

- Rehermann, B. (2016). Advances in hepatitis C research and treatment. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 13(2), 70-72.
- Roche. (2019). Hepatite C. [Em linha] Disponível em <<https://www.roche.pt/hepatites/hepatitec/comoprevenir.cfm>>. [Consultado em 21/10/2019].
- Romano, K.P., et alii. (2012). The molecular basis of drug resistance against hepatitis C virus NS3/4A protease inhibitors. *PLoS Pathog*, 8(7), pp. 1002832.
- Rosenberg, S. (2001). Recent Advances in the Molecular Biology of Hepatitis C Virus. *J Mol Biol*, 313(3), pp. 451- 464.
- Rueger, S., et alii. (2015). Impact of common risk factors of fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Gut*, 64(10), 1605-1615.
- Sabahi, A. (2009). Hepatitis C Virus entry: the early steps in the viral replication cycle. *Virology Journal*, 6, pp. 117.
- Saludes, V., et alii. (2014). Tools for the diagnosis of hepatitis C virus infection and hepatic fibrosis staging. *World J Gastroenterol*, 20, pp. 3431- 3442.
- Schillie, S., et alii. (2018). Hepatitis C Virus in Women of Childbearing Age, Pregnant Women, and Children. *American Journal of Preventive Medicine*, 55(5), pp. 633-641.
- Schmaljohn, A.L. (1996). Alphaviruses (Togaviridae) and Flaviviruses (Flaviviridae). *Medical Microbiology* 4th.
- Schoggins, J.W. e Rice, C.M. (2013). Innate immune responses to hepatitis C virus. *Curr Top Microbiol Immunol*, 369, 219-242.
- Shah, K.B., et alii. (2014). Hepatitis C Virus: Molecular Pathways and Treatments. Hepatitis C Virus: Molecular Pathways and Treatments. USA: Stambouli DO 1st edition.
- Shepard, C. Finelli, L. e Alter, M.J. (2005). Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *The Lancet Infectious Diseases*, 5, pp. 558-567.
- Shin-I, T., Sugiyama, M. e Mizokami, M. (2016). Hepatitis C Virus Genotypes and Their Evolution, *Journal of Hepatology*, 65, pp. 2-21.
- Simmonds, P. (2004). Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus. *Journal of General Virology*, 85, pp. 3173-3188.
- Smith, D., Bukh, J. e Kuiken, C. (2013). Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: Updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology*, pp. 318-327.
- Society for Maternal-Fetal Medicine (2017). Hepatitis C in pregnancy: screening, treatment, and management. *Am J Obstet Gyneco*, 217, pp. 5.

- Stankovic-Djordjevic, D., et alli. (2007). Hepatitis C virus genotypes and the development of hepatocellular carcinoma. *J Dig Dis*, 8(1), pp. 42-47.
- Strauss, E. (2001). Hepatite C. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*, 34 (1), pp. 69-82.
- Sulkowski, M.S., et alli. (2014). Daclastavir plus Sofosbuvir for Previously Treated or Untreated Chronic HCV Infection. *The New England Journal of Medicine*, 370(3), pp. 211-221.
- Suzuki, T. (2017). Hepatitis C Virus Replication. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 997, pp. 199-209.
- Tang, W. (2017). Diagnostic accuracy of tests to detect Hepatitis C antibody: a meta-analysis and review of the literature. *BMC Infectious Diseases*, 17(1), pp. 695.
- Timm, J. e Roggendorf, M. (2007). Sequence diversity of hepatitis C virus: Implications for immune control and therapy. *World J Gastroenterol*, 13(36), pp. 4808-4817.
- Tremblay, N. (2016). HCV NS3/4A Protease Inhibitors and the Road to Effective Direct-Acting Antiviral Therapies. *Hepatitis C virus II: Infection and disease*, pp. 257-285.
- Velosa, J., et alii. (2014). A practical guide for antiviral therapy of chronic Hepatitis C. *Portuguese Journal of Gastroenterology*, 21(6), pp. 221-230.
- Venkatraman, S., et alii. (2006). Discovery of (1R,5S)-N-[3-Amino-1-(cyclobutylmethyl)-2,3-dioxopropyl]-3-[2(S)-[[[(1,1-dimethylethyl)amino]carbonyl]amino]-3,3-dimethyl-1-oxobutyl]-6,6-dimethyl-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2(S)-carboxamide (SCH 503034), a Selective, Potent, Orally Bioavailable Hepatitis C Virus NS3 Protease Inhibitor: A Potential Therapeutic Agent for the Treatment of Hepatitis C Infection. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(20), pp. 6074-6086.
- Vermehren, J. (2018). Challenges and perspectives of direct antivirals for the treatment of hepatitis C virus infection. *Journal of Hepatology*, 69, pp. 1178-1187.
- Vieira, A.M., et alli. (2007). Hepatite C – Casuística da Consulta de Hepatologia de um Hospital Distrital. *Jornal Português de Gastroenterologia*, 14, pp. 134-140.
- Viner, K., et alii. (2014). The continuum of hepatitis C testing and care. *Viral Hepatitis*, 61(3), pp. 783-789.
- Wandelera, G., et alii. (2015). Hepatitis C: a changing epidemics. *Swiss Med Wkly*, 6, pp. 145.
- Wasley, A. e Alter, M.J. (2000). Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends. *Seminars in Liver Disease*, 20, pp. 1-16.

- Watts, T. e Stockman, L. (2017). Increased Risk for Mother-to-Infant Transmission of Hepatitis C Virus Among Medicaid Recipients. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 66(42), pp. 1136–1139.
- Westbrook, R.H. e Dusheiko, G. (2014). Natural history of hepatitis C. *Journal of Hepatology*, 61(1), pp. 58-68.
- Williford, S.E. e McGivern, D.R. (2016). Mechanism of Action of Direct-Acting Antivirals: New Insights into the HCV Life Cycle. *Hepatitis C Virus II*, pp. 287-301.
- Wong, M. e Chen, S. (2016). Emerging roles of interferon-stimulated genes in the innate immune response to hepatitis C virus infection. *Cellular & Molecular Immunology*, 13, pp. 11-35.
- Xu, Y. e Zhong, J. (2016). Innate immunity against hepatitis C virus. *Curr Opin Immunol*, 42, pp. 98-104.
- Yi, M., Ma, Y. e Yates, J. (2009). Trans-complementation of an NS2 defect in a late step in hepatitis C virus (HCV) particle assembly and maturation. *PLoS Pathog*, 5(5).