



**Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Medicina**

Vanessa Gutierrez de Andrade

**Influência dos Antivirais de Ação Direta na
Resistência Insulínica, nos Marcadores de
Fibrose e Função Hepática na cirrose por
Hepatite C**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra
em Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientador: Prof. Dr. **Giovanni Faria Silva**
Coorientador: Dr. **Cássio Vieira de Oliveira**

Botucatu
2018

Vanessa Gutierrez de Andrade

**INFLUÊNCIA DOS ANTIVIRAIS DE AÇÃO DIRETA NA
RESISTÊNCIA INSULÍNICA, NOS MARCADORES DE
FIBROSE E FUNÇÃO HEPÁTICA NA CIRROSE POR
HEPATITE C**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista -
Faculdade de Medicina de Botucatu para obtenção do Título
de Mestre em Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientador: Prof. Dr. *Giovanni Faria Silva*

Coorientador: Dr. *Cássio Vieira de Oliveira*

Botucatu
2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Andrade, Vanessa Gutierrez de.

Influência dos antivirais de ação direta na resistência insulínica, nos marcadores de fibrose e função hepática na cirrose por hepatite C / Vanessa Gutierrez de Andrade. - Botucatu, 2018

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Giovanni Faria Silva
Coorientador: Cássio Vieira de Oliveira
Capes: 40101002

1. Hepatite C. 2. Agentes antivirais. 3. Resistência à insulina. 4. Fibrose - Avaliação. 5. Sangue - Exame.

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

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, PEDRO e WANIA, por me ensinarem o significado de amor, carinho e atenção. Por todo o exemplo de honestidade, ética, moral e caráter. Por me ensinarem a correr atrás dos meus objetivos, não importa quão longe eles estejam e a sempre superar meus obstáculos e desafios. E principalmente, por todo o apoio.

Ao meu irmão PEDRO. Por ser meu melhor amigo, meu braço direito e meu aliado. Por toda a ajuda na escrita da tese e artigos. Você é parte disso.

A minha tia MÁRCIA e avó IRENE, por todo o carinho, amor e dedicação. Por serem como uma mãe para mim. Por sempre acreditarem em mim e me ajudarem em tudo o que precisasse. Por não medirem esforços para me dar todo o suporte necessário. Palavras não expressam minha gratidão.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Dr. GIOVANNI FARIA SILVA, por todo o ensinamento e dedicação a mim durante a escrita da tese. Pelo exemplo de ética e profissionalismo. Por acreditar em mim e sempre me estimular a crescer cada vez mais não importa as dificuldades.

A minha FAMÍLIA, por todo o amor, carinho e apoio.

Aos PACIENTES DO AMBULATÓRIO DE HEPATITES VIRAIS que humildemente aceitaram em participar desta pesquisa. Sem vocês, nada disso seria possível.

A minha amiga VANESSA, que está ao meu lado desde quando cheguei em Botucatu. Obrigada por ser minha alidada em tudo, por toda ajuda, por todo o apoio, conselhos e amizade. Você é muito importante pra mim.

A MARI NILCE, por todo o apoio, amizade, ajuda e companheirismo. Você é muito especial para mim e para todos.

A VERA LÚCIA, por toda a ajuda na marcação dos exames de Elastografia, por sempre me ajudar com tudo o que eu precisasse e pela amizade.

A FERNANDA WINCLER, pela amizade, apoio e companheirismo nos Congressos da vida.

A FLÁVIA, pelo companheirismo, amizade e ajuda em tudo o que eu precisasse.

Aos MÉDICOS E RESIDENTES DO AMBULATÓRIO DE HEPATITES VIRAIS. Sem a ajuda de vocês em pedir os exames necessários para a pesquisa, ela não seria possível.

A LICIANA, pelas inúmeras análises realizadas nesses dois anos para que eu conseguisse escrever essa dissertação. Meu muito obrigada por toda a ajuda e suporte.

Ao MARIO AUGUSTO DALLAQUA, por toda a ajuda na formatação dos meus artigos e da dissertação. Você é o melhor.

Aos funcionários da secretaria do departamento (ELISÂNGELA, LAURA, BRUNO e RENATO) por toda a ajuda e amizade.

SUMÁRIO

Resumo.....	1
Abstract	4
1. Introdução	7
2. Objetivos	19
3. Métodos.....	21
4. Resultados	26
5. Discussão.....	32
6. Conclusão	42
7. Referências	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análise descritiva da amostra com RVS no t-base (N=112)	27
Tabela 2. Descrição da média das variáveis APRI, FIB4 e MELD no t-base e t-RVS em pacientes com RVS (N=104)	28
Tabela 3. Descrição das médias das variáveis Ferritina sérica, Alfa feto proteína, colesterol Total, LDL e Triglicérides no t-base e t-RVS nos pacientes que atingiram a RVS (n=112)	31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Fórmula do MELD	24
Figura 2.	Distribuição do percentual de pacientes distribuídos quanto à pontuação de Child-Pugh em valores absolutos nos períodos t-base e t-RVS (N=104). O teste utilizado foi o modelo linear generalizado com distribuição de Poisson e função de ligação log .	28
Figura 3.	Análise gráfica da diferença dos valores absolutos do CHILD-PUGH (RVS menos t-base)	29
Figura 4.	Análise gráfica da diferença dos valores absolutos do MELD (RVS menos t-base)	29
Figura 5.	Análise gráfica da diferença dos valores absolutos do Apri (RVS menos t-base)	30
Figura 6.	Análise gráfica da diferença dos valores absolutos do FIB4 (RVS menos t-base)	30

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Escore de Child-Pugh	23
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

VHC: Vírus da Hepatite C
CHC: Carcinoma Hepatocelular
HCC: Hepatite C Crônica
AST: Aspartato Amino Transferase
ELH: Elastografia Hepática
ET: Elastografia Transitória
EH: Encefalopatia Hepática
RBV: Ribavirina
RVS: Resposta Viroológica Sustentada
IRS-1/IRS-2: Substrato do receptor de insulina 1 e 2
PI3 K: Fosfatidilinositol 3-quinase
AKT: Proteína Quinase
GLUT-4: Translocação do transportador de glucose 4
SOC3: Supressor de citocinas 3
RI: Resistência Insulínica
DM2: Diabetes Mellitus tipo 2
PEG: Peginterferon
IFN: Interferon
AADs: Antivirais de Ação Direta
HOMA-IR: Homeostase for Assesment of Insulin Resistance
AFP: Alfa-feto Proteína
LDL: Lipoproteína de baixa densidade
CT: Colesterol Total
TG: Triglicérides
SOF: Sofosbuvir
t-base: Baseline
t-RVS: Resposta Viroológica Sustentada
VHB: Vírus da Hepatite B
HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana
CBP: Cirrose Biliar Primária
HAI: Hepatite Auto Imune
HDA: Hemorragia Digestiva Alta
Fe: Ferritina
RM: Ressonância Magnética

RESUMO

Introdução: O Vírus da Hepatite C está associado a manifestações extra-hepáticas, dentre elas a resistência à insulina (RI). Estudos baseados em Interferon (IFN) e Ribavirina (RBV) mostraram uma melhora da RI e da regressão de fibrose associada à Resposta Viroológica Sustentada (RVS), mesmo em pacientes cirróticos. As evidências são incertas se isso ocorre com os Antivirais de Ação Direta (AADs). **Objetivos:** Avaliar a influência da RVS em cirróticos infectados pelo vírus da hepatite C (VHC) tratados com os AADs na RI, nos Lipídes Séricos, nos marcadores indiretos de atividade inflamatória, nos marcadores indiretos de fibrose hepática e nos escores de avaliação de função hepática. **Metodologia:** Estudo prospectivo longitudinal realizado no Ambulatório de Hepatites Virais da disciplina de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu em dois períodos: no início do tratamento (t-base) e na décima segunda semana após o fim do tratamento (t-RVS). Critérios de Inclusão: infecção pelo VHC (RNA-VHC positivo), idade ≥ 18 anos, conclusão da terapia com AADs, presença de cirrose hepática e amostras coletadas no t-base e t-RVS. Critérios de Exclusão: presença de coinfeção VHB/HIV, Carcinoma Hepatocelular no início do estudo ou no t-RVS, pacientes transplantados (fígado/rim). Para confirmação da cirrose utilizou-se a elastografia hepática ou biópsia (METAVIR), como também a clínica ou exames de imagem. Para avaliação indireta da fibrose hepática, utilizou-se as seguintes fórmulas: $APRI = \text{Valor de AST (UI/L)} / \text{Limite Superior Normal de AST (UI/L)} / \text{Contagem de Plaquetas (10}^9) \times 100$ e $FIB4 = \text{Idade (anos)} \times \text{AST (UI/L)} / \text{Contagem de Plaquetas (10}^9) \times \sqrt{\text{ALT (UI/L)}}$. Para a avaliação dos escores de função hepática, utilizou-se a pontuação de Child-Pugh e o MELD. O HOMA-IR foi calculado como $\text{insulinemia de jejum } (\mu\text{U/mL}) \times \text{glicemia de jejum (mmol/l)} / 22,5$. Foi realizado elastografia hepática no baseline e após a RVS. Realizou-se a análise estatística descritiva e modelo linear generalizado assumindo-se distribuição de Poisson e distribuição gama com função de ligação log. O valor de P considerado significativo foi $< 0,05$. **Resultados:** De 141 pacientes, foram incluídos 117. Os resultados do MELD, APRI e FIB4 no t-base/t-RVS foram $10,3 \pm 3,04 / 9,52 \pm 3,14$ ($p=0,0078$); $2,19 \pm 2,01 / 0,93 \pm 1,02$ ($p<0,0001$) e $5,61 \pm 3,45 / 3,86 \pm 3,14$ ($p=0,0001$), respectivamente. Os resultados de Ferritina (ng/mL), Alfa Feto Proteína (ng/mL), CT (mg/dL), LDL (mg/dL) e TG (mg/dL) e

HOMA-IR no t-base / t-RVS foram: $446,47 \pm 492,94 / 182,67 \pm 173,65$ ($p < 0,0001$); $19,62 \pm 57,76 / 5,39 \pm 3,97$ ($p = 0,0105$); $143,25 \pm 33,69 / 153,81 \pm 33,78$ ($p = 0,0010$); $75,69 \pm 29,97 / 86,03 \pm 31,22$ ($p = 0,0036$) e $98,19 \pm 44,97 / 96,59 \pm 50,36$ ($p = 0,7432$), $4,88 \pm 4,11 / 5,25 \pm 4,9$ ($p = 0,685$), respectivamente. Os resultados de Elastografia no t-base/t-RVS foram: $27,82 \pm 9,59 / 19,26 \pm 9,72$ ($p < 0,001$). **Conclusão:** Os escores de Avaliação Indireta da Fibrose Hepática e os de avaliação da Função Hepática melhoraram significativamente em pacientes cirróticos com RVS tratados com AADs. A Ferritina e Alfa Feto Proteína Séricas diminuíram significativamente, e o CT e LDL aumentaram significativamente. Nos níveis séricos de TG não foram observadas mudanças significativas. Houve uma redução significativa da média de Elastografia Hepática na RVS. A média do HOMA-IR aumentou na RVS, porém sem significância estatística.

Palavra-chaves: Hepatite C, Antivirais de Ação Direta, APRI, FIB-4

ABSTRACT

Introduction: Hepatitis C virus is associated with extrahepatic manifestations, including insulin resistance (IR). Studies based on Interferon (IFN) and Ribavirin (RBV) have shown an improvement in IR and fibrosis regression associated with Sustained Virological Response (SVR), even in cirrhotic patients. This evidence is uncertain if this occurs with Direct Action Antivirals (DAAs).

Objective: To evaluate the influence of SVR on hepatitis C virus (HCV) infected cirrhotic patients treated with DAAs in IR, Serum Lipids, indirect markers of inflammatory activity, indirect markers of hepatic fibrosis and evaluation scores of hepatic function.

Methods: Prospective longitudinal study conducted at the Viral Hepatitis Outpatient Clinic of the Gastroenterology Department of the Clinical Hospital of Botucatu Medical School in two periods: at the beginning of treatment (t-base) and at the twelfth week after the end of treatment (t-SVR). Inclusion Criteria: HCV infection (age-positive HCV RNA), age ≥ 18 years, completion of DAAs therapy, presence of liver cirrhosis and samples collected at t-base and t-SVR. Exclusion Criteria: presence of HBV / HIV coinfection, Hepatocellular Carcinoma at baseline or in t-SVR, transplanted patients (liver / kidney). To confirm cirrhosis, hepatic elastography or biopsy (METAVIR) was performed, as were clinical or imaging tests. The following formulas were used for the indirect evaluation of hepatic fibrosis: $APRI = \frac{AST (UI / L)}{AST (UI / L) \text{ Normal Limit}} / \frac{Platelet Count (10^9)}{109} \times 100$ and $FIB4 = \frac{Age \times AST (IU / L)}{Platelet Count (10^9)} \times \sqrt{ALT (IU / L)}$. For the evaluation of liver function scores, Child-Pugh score and MELD were used. HOMA-IR was calculated as $\frac{\text{fasting insulin } (\mu U / mL) \times \text{fasting blood glucose (mmol/l)}}{22.5}$. Hepatic elastography was performed at baseline and after SVR. Descriptive statistical analysis and generalized linear model were performed assuming Poisson distribution and gamma distribution with log binding function. The P value considered significant was < 0.05 .

Results: Of 141 patients, 117 were included. The results of MELD, APRI and FIB4 in t-base / t-SVR were $10.3 \pm 3.04 / 9.52 \pm 3.14$ ($p = 0.0078$); $2.19 \pm 2.01 / 0.93 \pm 1.02$ ($p < 0.0001$) and $5.61 \pm 3.45 / 3.86 \pm 3.14$ ($p = 0.0001$), respectively. The results of Ferritin (ng / mL), Alfa-Feto Protein (ng / mL), CT (mg / dL), LDL (mg / dL) and TG RVS were: $446.47 \pm 492.94 / 182.67$ 173.65 ($p < 0.0001$); $19.62 \pm 57.76 / 5.39 \pm 3.97$ ($p = 0.0105$); $143.25 \pm 33.69 / 153.81 \pm 33.78$ ($p = 0.0010$); $75.69 \pm 29.97 / 86.03 \pm 31.22$ ($p =$

0.0036) and $98.19 \pm 44.97 / 96.59 \pm 50.36$ ($p = 0.7432$), $4.88 \pm 4.11 / 5.25 \pm 4.9$ ($p = 0.685$), respectively. The results of T-base / t-SVR Elastography were: $27.82 \pm 9.59 / 19.26 \pm 9.72$ ($p < 0.001$). **Conclusion:** Indirect Hepatic Fibrosis Assessment and Hepatic Function evaluation scores were significantly improved in cirrhotic patients with SVR treated with DAAs. Serum Ferritin and Alpha Fetus Protein decreased significantly, and TC and LDL increased significantly. No significant changes were observed in serum TG levels. There was a significant reduction in the mean of Hepatic Elastography in SVR. The mean HOMA-IR increased in SVR, but without statistical significance.

Key words: Hepatitis C, Direct Action Anti Viral, APRI, FIB-4

1. INTRODUÇÃO

1.1 História Natural

O vírus da Hepatite C (VHC) infecta mais de 71 milhões de pessoas no mundo todo, e constitui-se na principal causa de carcinoma hepatocelular (CHC) e transplante hepático no ocidente.¹

Aproximadamente 60% a 80% das pessoas infectadas irão desenvolver infecção crônica pelo VHC. Neles, o risco de evolução para cirrose hepática é de 15 a 30% em um período de 20 anos.¹ A cirrose hepática define-se anatomicamente como um processo difuso de fibrose e formação de nódulos é acompanhada frequentemente de necrose hepatocelular. Após o diagnóstico de cirrose hepática, o risco anual para o desenvolvimento de Carcinoma Hepatocelular é de 1 a 5%², e o de descompensação hepática é de 3% a 6%. Após um primeiro episódio de descompensação hepática, o risco de óbito, nos próximos 12 meses, é de 15% a 20%.²

A fibrose, por sua vez, é o resultado de lesões repetidas nos hepatócitos provocadas pela infecção com o VHC e pela resposta imune a ela, o que leva a uma falha no processo regenerativo e à deposição de uma quantidade abundante de matriz extracelular. O acúmulo progressivo dessa matriz gera nódulos, que causam uma distorção da anatomia hepática e cirrose, as quais são responsáveis pela alta taxa de morbidade e mortalidade em todo o mundo^{3,4}.

A cirrose pode ser classificada em compensada e descompensada. A cirrose descompensada se caracteriza pelo surgimento de uma ou mais complicações, como a ascite, icterícia, hemorragia varicosa e encefalopatia hepática.^{5,6} Pacientes com doença compensada têm uma média de sobrevida muito maior quando comparados a pacientes com descompensação da doença.^{5,6} As complicações relacionadas à cirrose são consideradas as principais razões pelas quais a infecção crônica pelo VHC é associada a uma menor sobrevida.⁷

O sistema de classificação *Child-Pugh* foi publicado em 1964, e tornou-se o método predominante para a avaliação do prognóstico da cirrose hepática.⁸ Os autores selecionaram cinco parâmetros (albumina sérica, bilirubina sérica, tempo de protombina, ascite e encefalopatia) aos quais atribuíram um de três níveis de risco, e converteram o composto em uma das três classes.⁹ O escore é

calculado somando-se os pontos desses parâmetros, e pode variar de 5 a 15 pontos. Dessa forma, escores de 5 a 6 determinam *Child A*, de 7 a 9, *Child B*, e igual ou acima de 10 pontos, *Child C* ¹⁰.

O MELD (*Model for End Stage Liver Disease*) é um modelo desenvolvido para avaliar a gravidade da cirrose e prever a mortalidade. Ele também prioriza os candidatos com doença hepática mais avançada para o transplante, incluindo aqueles com Carcinoma Hepatocelular ^{11,12,13,14}. O cálculo do escore MELD é baseado na bilirrubina sérica, no tempo de pró-trombina calculado como Razão Normalizada Internacional e creatinina sérica ¹⁵. Seu valor varia de 6 a 40, e, quanto maior esse valor, maior a gravidade do caso ¹⁶.

1.2 Métodos Diretos e Indiretos de Avaliação da Fibrose Hepática

A biópsia hepática é considerada padrão ouro para o estadiamento da fibrose hepática. Outros parâmetros também podem ser avaliados, como inflamação, necrose, esteatose, e presença de ferro hepático na amostra obtida. ¹⁷ A qualidade do procedimento é determinada pelo comprimento, diâmetro, fragmentação e número de espaços porta obtidos. ^{18,19} A classificação da fibrose mais usada é o escore Metavir, o qual utiliza duas letras e dois números que compõem um código, sendo que A corresponde à atividade inflamatória histológica e A0 equivale a nenhuma atividade. Dessarte, tem-se que A1 traduz uma atividade leve, A2 uma atividade moderada e A3 uma atividade severa. O F se refere à fibrose, de modo que F0 significa ausência de fibrose, F1 corresponde à fibrose portal sem septos, F2 consiste em fibrose portal com pouco septo, F3 configura vários septos sem cirrose e, finalmente, F4 determina cirrose. ^{20,21} É um procedimento seguro, porém possui risco de complicações e seu custo é elevado. Por conta de tais limitações, observou-se o desenvolvimento de métodos não-invasivos, mais acessíveis financeiramente e de elevada acurácia para avaliação da fibrose hepática. Esses métodos não-invasivos são parâmetros hematológicos e bioquímicos medidos no sangue que, quando usados isoladamente ou combinados, podem refletir a fibrose hepática estabelecida. Dentre esses testes, os mais importantes são o FIB-4 e o APRI. ^{22,23,24}

O APRI (Índice de Relação entre Aspartato Aminotransferase e Plaquetas) é um índice obtido através da relação da AST por contagem de plaquetas. É um método de avaliação indireta da fibrose hepática baseado em parâmetros de exames de rotina.²² O $\text{Apr} \leq 0,5$ significa que não existe a presença de fibrose avançada ($\text{METAVIR} \geq \text{F2}$). Já o $\text{Apr} \geq 1,5$ indica a existência de fibrose avançada ($\text{METAVIR} \geq \text{F3}$).²³

O sistema de índice FIB-4 também é um método de avaliação indireta do grau de fibrose hepática, e inclui ALT, AST, Plaquetas e idade. Ele obtém um bom efeito na previsão da fibrose hepática. Um $\text{Fib4} \leq 1,45$ significa que não existe fibrose avançada ($\text{METAVIR} \geq \text{F2}$). Já o $\text{Fib4} \geq 3,25$ aponta para a presença de fibrose avançada ($\text{METAVIR} \geq \text{F3}$).^{24,25}

A vantagem dessas pontuações é clara, uma vez que não demandam procedimentos invasivos ou demorados, nem equipamentos caros: somente um laboratório de rotina. Os escores do índice de fibrose (FIB-4) e do índice da relação aspartato-aminotransferase-plaquetas (APRI) foram validados para hepatite C crônica (HCC) e mostram sensibilidade e especificidade consideráveis, especialmente em relação à fibrose avançada e à cirrose.^{26,27}

A elastografia transitória (ET) é um método baseado em ultrassonografia e no princípio da lei de Hooke, a qual caracteriza a resposta de tensão de um material qualquer ao estresse externo ²⁸. Dessa forma, a transmissão de vibrações de baixa frequência a partir do espaço intercostal direito cria uma onda de cisalhamento elástica que se propaga para o fígado. A velocidade é proporcional à rigidez do tecido, sendo que a progressão mais rápida da onda ocorre através do material mais rígido. A medição da rigidez do fígado (LS) é então realizada e medida em quilopascals (kPa)²⁹ (valores entre 2,5 e 75 kPa).

Os métodos elastográficos para avaliação da fibrose hepática podem ser divididos em elastografia baseada em ultrassonografia e elastografia por ressonância magnética (RM). Existem diversos métodos para avaliar a fibrose hepática através da ultrassonografia, sendo eles o FibroScan, a Elastografia de Tecido em Tempo Real (HiRT-E, Hitachi)^{30,31}, e o Impulso da Força de Radiação Acústica (ARFI) (Siemens). Dos métodos não invasivos disponíveis, a ET é o mais

preciso com sensibilidade e especificidade crescentes para estágios avançados de fibrose.^{32,33}

1.3 Tratamento da Hepatite C Crônica

O tratamento padrão da Hepatite C costumava ser baseado no uso de Peginterferon alfa associado à RBV. As taxas de Resposta Viroológica Sustentada (RVS), com essa terapia, eram de 42 a 52% para genótipo 1 e de 76% a 82% para os genótipos 2 e 3. Contudo, em cirróticos, a RVS era de aproximadamente 18% em genótipo 1.^{34,35,36,37}

Os antivirais de ação direta são medicamentos que atuam diretamente no VHC³⁸, interrompendo a replicação viral. Eles atuam principalmente em três sítios específicos: NS3/4, NS5A ou NS5B. No Brasil, as drogas disponíveis são: Daclatasvir, Simeprevir, Sofosbuvir, bem como a associação dos fármacos ombitasvir, dasabuvir, veruprevir, e ritonavir - 3D.³⁹ As taxas de RVS são altas e causam poucos eventos adversos.

1.4 Resistência Insulínica x Hepatite C x Tratamento

A insulina é o agente anabólico mais potente, que aumenta o armazenamento e a síntese de lipídios, carboidratos e proteínas, e bloqueia sua degradação e liberação na corrente sanguínea.⁴⁰ O receptor de insulina é um complexo heterodimérico que consiste em duas subunidades α extracelulares que se ligam à insulina, e duas subunidades β transmembranas com atividade da tirosina quinase. A ligação à insulina promove a autofosforilação do receptor e a subsequente fosforilação da tirosina de vários substratos do receptor de insulina (IRS-1 e IRS-2), que iniciam uma cascata de eventos. Os principais transdutores da regulação da glicose mediada por insulina são a fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K) e a proteína quinase Akt.⁴¹ Essas ações se manifestam através da ação da insulina em uma complexa rede de vias intracelulares em adipócitos, músculos e hepatócitos. O resultado final dessa ativação é a translocação do transportador de glucose 4 (GLUT-4), a partir da reserva intracelular para a membrana celular,

facilitando o transporte de glicose para o citoplasma⁴². Em casos de Resistência Insulínica (RI), existe insuficiência da ligação do receptor da insulina e a fosforilação do IRS-1 e IRS-2 no músculo e no fígado, além de uma diminuição dramática na atividade de PI3K e na captação de glicose.^{41,43}

O vírus da hepatite C pode aumentar a produção de TNF, responsável pela fosforilação de resíduos de serina nos substratos 1 e 2 do receptor de insulina, e do supressor de citocinas (SOC3). O SOC inibe a fosforilação de Akt e fosfatidil inositol-3 quinase (PI3K). Todos esses comprometimentos na sinalização intracelular da insulina podem bloquear a transativação do GLUT-4, impedindo a captação de glicose pelas células. O papel da produção de proteína core do VHC, TNF e SOC no desenvolvimento de resistência à insulina tem sido demonstrado em modelos animais transgênicos.⁴⁰

Sabe-se que existe uma relação entre HCC e RI. Um estudo mostrou que a prevalência de DM2 em pacientes cirróticos com HCC foi significativamente maior do que naqueles com cirrose resultante de condições diferentes do HCC.⁴⁴ Reciprocamente, a prevalência de infecção pelo vírus da hepatite C (VHC) em pacientes diabéticos é maior do que na população geral, variando de 5% a 12%.^{45,46}

A RI contribui para o processo fibrogênico na Hepatite C Crônica, apresentando importante associação entre estágios avançados de fibrose hepática e valores mais altos de RI.^{47,48} A RI também é importante para o desenvolvimento da esteatose hepática, pois inicia uma cascata de eventos que resulta em liberação excessiva de ácidos graxos livres em direção ao parênquima hepático. Quando a captação de ácidos graxos livres vindos do plasma e a produção de novos produtos superam a capacidade de oxidação e exportação do hepatócito sob a forma de triglicerídeos, estes se acumulam no parênquima hepático, acarretando a esteatose hepática. A esteatose hepática pode facilitar o desenvolvimento de fibrose hepática ao gerar estresse oxidativo resultante do acúmulo de lipídeos no hepatócito, o que leva a maior secreção de citocinas inflamatórias, a formação de espécies reativas de oxigênio e a ativação de células hepáticas estreladas - etapa fundamental para o surgimento de fibrogênese hepática.⁴⁹

A RI é vista como preditora independente da progressão da fibrose em pacientes com Hepatite C Crônica.⁵⁰ Além disso, tem sido mostrado que as vias que

levam à RI induzida pela Hepatite C Crônica possam ser um fator de risco para o desenvolvimento de carcinoma hepatocelular.⁵¹ A RVS com PEG+RBV foi associada à melhora de RI.⁵²

Romero-Gomez et al.⁵² mostraram que a RI esteve associada a menores taxas de resposta virológica sustentada (RVS) em pacientes que receberam terapia baseada em interferon (IFN), independente do genótipo viral. Quanto aos AADs, a RI basal não afetou os resultados da terapia baseada em AADs e os escores do HOMA-IR não tiveram efeito sobre a resposta virológica.^{53,54}

1.5 Marcadores Indiretos de Inflamação (Alfa Feto Proteína/Ferritina sérica) x tratamento

Alfa Feto Proteína (AFP) é uma proteína oncofetal associada com Carcinoma Hepatocelular (CHC) e com a regeneração hepática.⁵⁵ Em muitos distúrbios hepáticos que não o CHC, principalmente naqueles de etiologia viral, foram observados níveis séricos aumentados de AFP⁵⁶. Assim, após a destruição dos hepatócitos na hepatite viral, o aumento dos níveis séricos de AFP pode ser usado como um indicador para a regeneração hepática.⁵⁶

Em pacientes com HCC, o nível sérico de AFP é um preditor essencial do curso clínico, já que os níveis séricos aumentados de AFP estão relacionados a baixa taxa de resposta viral ao interferon, à fibrose avançada⁵⁷ e à alta frequência de CHC.⁵⁹ A inflamação do fígado aumenta os valores de AFP na ausência de CHC. A eliminação da inflamação através da RVS deve tornar a AFP mais específica para o diagnóstico de CHC.⁵⁸

Em pacientes com Hepatite C e sem CHC, foi observado uma elevação da AFP, sendo essa elevação normalizada após o tratamento com interferon (IFN).⁵⁹ Contudo, essa diminuição nos valores de AFP foi limitada a pacientes com cirrose compensada e que atingiram a RVS.^{59,60} Com os AADs, o impacto da RVS na AFP é ainda bastante desconhecido.

A ferritina sérica é um parâmetro bioquímico universalmente disponível, elevado em várias condições clínicas, incluindo pacientes com doenças hepáticas agudas e crônicas⁶¹. A síntese de ferritina é induzida por macrófagos e

hepatócitos e níveis elevados podem ser observados em condições de sobrecarga de ferro ou em várias patologias, inflamação, infecção e doenças do fígado^{62,63}. Além disso, o fígado também sintetiza e secreta hepcidina, um hormônio regulador de ferro^{64,65} que afeta o metabolismo do ferro e a síntese de ferritina. Sabe-se que os níveis de hepcidina se correlacionam negativamente com a função hepática.^{66,67} Assim, a hiperferritinemia observada na cirrose descompensada poderia ser atribuída tanto à endotoxemia da própria cirrose, que induz uma maior síntese de ferritina, quanto à produção deficiente de hepcidina pelo fígado cirrótico, o que leva à elevada absorção de ferro.⁶⁷

A hemossiderose pode ser observada em 30% e 40% dos infectados⁶⁸ e tem sido associada à progressão mais rápida da doença hepática, através da indução de estresse oxidativo e da liberação de citocinas pelo ferro livre no tecido hepático, as quais causariam ativação das células estreladas do fígado, acelerando a fibrogênese^{69,70}

Na hepatite C crônica tratada com INF, os níveis séricos elevados de ferritina mostraram-se negativamente associados ao resultado do tratamento.⁷¹ O VHC altera o metabolismo hepático do ferro, e os níveis de ferro hepático correlacionam-se com ambos: tanto com o grau de inflamação hepática e estágio de fibrose, como com o resultado do tratamento.^{72,73,74,75} O excesso de ferro no fígado promove inflamação hepática, disfunção mitocondrial e estresse oxidativo.⁷⁶ Com a terapia baseada em AADs, ainda não se tem evidências claras do comportamento da Ferritina Sérica, bem como de seu impacto na RVS.

1.6 Lípidos Séricos x Hepatite C x Tratamento

O VHC é conhecido por utilizar as vias metabólicas lipídicas do hospedeiro durante a replicação viral.⁷⁷ Para facilitar essa montagem e produção viral, as proteínas do VHC interagem com gotículas lipídicas associando-se as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) chamadas partículas “lipoviricas” (LPV). A incorporação de apolipoproteínas hospedeiras nas LVPs pode ser um mecanismo para facilitar a entrada do VHC no hepatócito^{78,79}, sendo necessário muitas apolipoproteínas para a montagem viral e produção de partículas infecciosas⁸⁰.

A erradicação do VHC está muito relacionada ao metabolismo lipídico em pacientes tratados com Interferon. Foi observado que o colesterol total (CT), o LDL e os níveis de triglicérides (TG) aumentavam em pacientes que alcançavam a RVS na terapia baseada em Interferon com o genótipo 1⁸¹. Em pacientes que não atingiram a RVS, foi observada hipocolesterolemia no pré-tratamento, indicando que baixos níveis de colesterol antes do início do tratamento foram preditores independentes da não RVS.⁸²

As alterações nos lipídios parecem não afetar o tratamento com os AADs, e há dados limitados sobre os efeitos dessas medicações sobre os efeitos metabólicos e perfis lipídicos. Um estudo mostrou flutuações nos níveis de LDL ao longo do tratamento, com elevações do LDL em pacientes que atingiram a RVS recebendo sofosbuvir (SOF) e ribavirina (RBV). Pacientes tratados com SOF em simultâneo com RBV tiveram aumento nos níveis séricos de LDL e diminuição nos níveis de TG.⁸³

1.7 Regressão da Fibrose Hepática x Tratamento

A Resposta Viroológica Sustentada (RVS) foi associada à normalização das enzimas hepáticas e à melhora ou desaparecimento de necroinflamação e fibrose hepática em pacientes sem cirrose. Contudo, mesmo após a RVS, os pacientes cirróticos que apresentam alguma descompensação hepática continuam correndo risco de morte; porém, em pacientes com cirrose compensada, a fibrose hepática pode regredir e o risco de descompensação é reduzida. Dados recentes sugerem que os riscos de CHC e mortalidade são significativamente reduzidos em pacientes cirróticos que eliminaram o vírus, comparados àqueles que não foram tratados e àqueles que não atingiram RVS. Contudo, tais riscos não são eliminados.^{84,85}

Historicamente, a terapia com IFN em pacientes cirróticos foi associada a baixos níveis de resposta virológica e baixo perfil de segurança.⁸⁶ Em pacientes tratados com PEGIFN + RBV, a RVS levou a resultados significativamente mais favoráveis a longo prazo, tais como menor risco de progressão para cirrose e menor ocorrência de carcinoma hepatocelular, comparados aos que não atingiram

RVS.⁸⁷ Houve, também, regressão da fibrose e reversão da cirrose em alguns casos.^{88,89,90} Além disso, houve diminuição do risco de evolução para estágios mais avançados de doença hepática, como o carcinoma hepatocelular e outras descompensações hepáticas (ascite, encefalopatia, ruptura de varizes esofágicas).^{91,92} A mortalidade relacionada à doença hepática diminuiu com o alcance da RVS.^{93,94}

O tratamento baseado em telaprevir melhorou significativamente todos os biomarcadores não invasivos testados (escores APRI e FIB-4 e Fibrotest)⁹⁵, bem como na Elastografia Transitória depois do alcance da RVS⁹⁶. Pacientes que receberam daclatasvir e asunaprevir tiveram os biomarcadores de fibrose sérica (ácido hialurônico, colágeno tipo IV, proteína de ligação a Mac-2) reduzidos após 27 meses de RVS⁹⁷. Resultados semelhantes foram encontrados com tratamentos baseados em sofosbuvir, mostrando rápida diminuição na fibrose hepática e na pontuação da rigidez hepática após o tratamento.⁹⁸

Nos pacientes com cirrose descompensada, ou seja, Child B ou C, o tratamento com AADs tem demonstrado resultados favoráveis.⁹⁹ Em um estudo, esses pacientes atingiram RVS de 87 a 89% e tiveram melhora nos resultados de avaliação de função hepática.¹⁰⁰

Por outro lado, o risco de CHC após RVS com AADs é desconhecido. Os resultados, até agora, têm sido muito controversos. Alguns estudos mostraram associação da RVS com ocorrência de CHC, enquanto outros estudos mostraram resultados negativos para essa associação. Dado que o risco de se desenvolver CHC permanece após a RVS, os pacientes cirróticos precisam ser incluídos em programa de vigilância para rastreamento de CHC.¹⁰¹

1.8 Evolução da Cirrose Hepática e Tratamento Antiviral

A cirrose pode ser classificada como compensada ou descompensada, baseando-se na ausência ou presença de sangramento de varizes, ascite ou encefalopatia.^{102,103,104}

O aumento da resistência hepática ao fluxo sanguíneo leva gradualmente à hipertensão portal. A descompensação e as varizes esofágicas podem ocorrer quando a pressão portal se encontrar acima de ≥ 10 mmHg.^{105,106}

A tensão da parede das varizes é uma propriedade intrínseca da parede do vaso que se opõe à força expansiva determinada pela pressão transmural das varizes, que depende da pressão portal e do tamanho do vaso. O suporte tecidual ao redor da variz pode neutralizar o aumento da pressão e do tamanho das varizes, protegendo a parede de ruptura.¹⁰⁷ As varizes crescem em calibre em proporções semelhantes^{108,109} e podem se romper em 5% até 15% dos pacientes por ano, com maior risco em pacientes com varizes esofágicas grandes e com sinais vermelhos ou nos que pertencem à classe Child B/C.¹¹⁰ O sangramento devido às varizes é uma das emergências mais críticas na medicina, com taxa de mortalidade de 10% a 20%.^{111,112}

A ascite atinge cerca de 5% a 10% dos pacientes com cirrose compensada por ano.¹¹³ A principal causa de sua formação é a retenção renal de sódio devido à ativação de sistemas de retenção de sódio, como o sistema renina-angiotensina-aldosterona e o sistema nervoso simpático.¹¹⁴ O balanço de fluido positivo resultante leva à expansão do volume de fluido extracelular. O surgimento da ascite é um sinal de prognóstico ruim, uma vez que a sobrevida em cinco anos cai - aproximadamente - de 80% em pacientes compensados para 30% em pacientes com cirrose e ascite.¹¹⁵

A Encefalopatia Hepática¹¹⁶ (EH) é definida como uma anormalidade neuropsiquiátrica, acarretando níveis alterados de consciência, distúrbios de personalidade e debilidade da função intelectual. Em adição, essa anormalidade também gera disfunção neuromuscular como resultado da insuficiência hepática. A EH está associada a uma sobrevida em cinco anos de cerca de 20%

Justificativa

Na terapia baseada em Interferon, muitos estudos observaram melhora significativa da RI, como também da regressão da fibrose hepática, ambas associadas com o alcance da RVS. Atualmente, com o uso dos AADs, não há dados

suficientes e claros atestando essa melhora da RI e da regressão dos escores indiretos de avaliação da fibrose hepática em pacientes cirróticos. Dessa forma, os resultados obtidos através do presente estudo são de grande valia na busca pela melhora do tratamento e da abordagem de pacientes portadores do vírus C.

Hipótese

O tratamento para o VHC com os AADs está associado à melhora da resistência insulínica, bem como à melhora dos marcadores não invasivos de fibrose e dos escores de função hepática em pacientes cirróticos com Hepatite C Crônica.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos primários

O objetivo primário deste estudo foi avaliar se a Resposta Viroológica Sustentada, em terapia baseada nos Antivirais de Ação Direta, influenciou na melhora dos escores de avaliação indireta da fibrose hepática, como também nos escores de função hepática.

2.2 Objetivos secundários

- Avaliar se a RVS com AADs influenciou na melhora dos marcadores indiretos de inflamação, quais sejam: Alfa Feto Proteína e Ferritina Sérica.
- Avaliar se a RVS com AADs influenciou nos níveis lipídicos.
- Avaliar se o tratamento com os AADs influenciou no comportamento do HOMA-IR na RVS.
- Avaliar se a média de Elastografia diminuiu na Resposta Viroológica Sustentada.

3. MÉTODOS

Este foi um estudo prospectivo longitudinal realizado no Ambulatório de Hepatites Virais da disciplina de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB) com pacientes cronicamente infectados pelo vírus C, cirróticos, que receberam tratamento com os antivirais de ação direta (AADs) - Sofosbuvir, Daclastavir e Simeprevir com ou sem Ribavirina (RBV) - no período de 2017 a 2018. Os dados foram coletados a partir dos prontuários do Hospital das Clínicas da FMB no início do tratamento (t-base) e na décima segunda semana após o término do tratamento (t-RVS).

O estudo foi submetido ao Comitê de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB) e foi aprovado sob o Protocolo de Pesquisa: nº 1.851.631. Foi aplicado a todos os pacientes o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), e todas as dúvidas em relação ao estudo foram sanadas. Após todos os participantes concordarem em participar do estudo, eles assinaram o Termo, dando permissão para serem incluídos na pesquisa.

3.1 Critérios de Inclusão:

- Idade igual ou superior a 18 anos;
- Hepatite C Crônica definida por RNA-VHC sérico positivo;
- Comprovação de estágio de fibrose F4, por elastografia hepática (fibroscan® ou outro método)²¹ ou biópsia hepática segundo a classificação de METAVIR; ou cirrose diagnosticada clinicamente ou por exames de imagem;
- Pacientes que completaram o tratamento com os AADs.

3.2 Critérios de Exclusão:

- Coinfecção com VHB;
- Coinfecção com HIV;
- Outras causas de cirrose: Cirrose Biliar Primária (CBP), Hepatite Autoimune (HAI), etc;
- Carcinoma hepatocelular ativo pré e pós tratamento;

- Pacientes cirróticos diabéticos em uso de Insulina;
- Pacientes transplantados (fígado e rim).

3.3 Desenho do Estudo

Este é um estudo prospectivo e longitudinal, em que foram avaliadas as seguintes variáveis no t-base e t-RVS: Resistência Insulínica, Lípides Séricos, Alfa Feto Proteína, Ferritina Sérica, Métodos Indiretos de Avaliação da Fibrose Hepática (APRI e FIB4) e Escores de Avaliação da Função Hepática (Child-Pugh e MELD).

A Resposta Viroológica Sustentada (RVS) foi definida quando o RNA VHC foi indetectável na décima segunda semana pós-tratamento em todos os grupos.

3.4 Dados avaliados

Os seguintes dados foram coletados no início do tratamento: gênero, idade, genótipo do vírus e carga viral do VHC.

Os seguintes resultados laboratoriais e clínicos foram observados nos dois períodos (t-base e t-RVS): Insulina e Glicose basal, Lípides Séricos, Alfa Feto Proteína e Ferritina Sérica.

Para avaliação do escore de Child-Pugh foram utilizados os seguintes parâmetros: albumina sérica, bilirrubina total, tempo de protrombina, ascite e encefalopatia hepática (Quadro I).

Quadro 1: Escore de Child-Pugh

Critério	1 ponto	2 pontos	3 pontos
<u>Bilirrubina total</u> (mg/dl)	<2	2-3	>3
<u>Albumina sérica</u> (g/dl)	>3,5	2,8-3,5	<2,8
<u>TP (s) / INR</u>	1-3 / <1,7	4-10 / 1,71-2,20	>10 / >2,20
<u>Ascite</u>	Nenhuma	Leve	Grave
<u>Encefalopatia hepática</u>	Nenhuma	Grau I-II (ou suprimida com medicação)	Grau III-IV (ou refratária)

O sistema de pontuação MELD também foi avaliado, contemplando bilirrubina sérica, creatinina e INR (Figura 1).

$$\text{MELD} = 3,78[\text{Ln bilirrubina sérica (mg/dL)}] + 11,2[\text{Ln INR}] + 9,57[\text{Ln creatinina sérica (mg/dL)}] + 6,43.$$

Figura 1. MELD

Os escores de APRI e FIB4 foram utilizados para avaliação indireta da fibrose hepática, através da equação:

$$\text{APRI} = \frac{\text{Valor de AST (UI/L)}}{\frac{\text{Limite Superior Normal de AST (UI/L)}}{\text{Contagem de Plaquetas (10}^9\text{)}}} \times 100^{22,23}$$

$$\text{FIB4} = \frac{\text{Idade (anos)} \times \text{AST (UI/L)}}{\text{Contagem de Plaquetas (10}^9\text{)}} \times \sqrt{\text{ALT (UI/L)}}^{24,25}$$

Foi realizado Elastografia Hepática no t-base e dois anos após o alcance da RVS.

O método de Homa-IR (Homeostase for Assesment of Insulin Resistance) foi utilizado para avaliar a resistência insulínica, através da equação: Homa IR= glicemia de jejum x 0,0551 x insulina/ 22,5⁵⁰, onde um HOMA-IR ≥ 2,5 foi utilizado como indicador de Resistência Insulínica.

Foram avaliadas as seguintes descompensações da cirrose no baseline:

Ascite: determinada por exame clínico, por paracentese abdominal ou por ultrassonografia.

Encefalopatia Hepática: episódios de confusão mental claramente relatados pelo paciente ou membro da família. A encefalopatia hepática pode ser caracterizada em 4 graus¹¹⁷:

- Grau 1: Alteração psicométrica. Mudança no ciclo do sono, humor e comportamento;
- Grau 2: Sonolência e desorientação;
- Grau 3: Coma com resposta a estímulos;
- Grau 4: Coma profundo sem resposta a estímulos;

Hemorragia Digestiva Alta (HDA): Sangramento confirmado seguindo-se o critério de Baveno VI¹¹⁸.

3.5 Métodos Estatísticos

Foi utilizada estatística descritiva nas variáveis contínuas com valores de média e desvio padrão.

Para comparar Child-Pugh entre os períodos, foi utilizado modelo linear generalizado assumindo-se distribuição de Poisson e função de ligação log, considerando-se medidas repetidas. Para comparar MELD, APRI, FIB4, Ferritina, Alfa Feto Proteína, Elastografia Hepática e Lípides Séricos entre os períodos, foi utilizado modelo linear generalizado assumindo-se distribuição de gama e função de ligação log, considerando-se medidas repetidas. Para a análise do HOMA-IR foi utilizado o teste de Wilcoxon. Um valor de $p \leq 0,05$ foi considerado significativo.

4. RESULTADOS

4.1 Características da População Estudada

De 141 pacientes, foram incluídos 117. Onze foram excluídos por apresentarem nódulos pré ou pós-tratamento, 4 evoluíram para óbito antes da conclusão da terapia, 1 recebeu transplante de fígado pré- tratamento e 8 não tinham todos os dados necessários para a análise. Desses 117, 112 atingiram a RVS. A média de idade nos pacientes com RVS foi de $57,5 \pm 9,91$ anos, 70% eram do sexo masculino e 68% eram pacientes em retratamento (PEG/INF mais RBV com ou sem IP). O genótipo mais prevalente foi o tipo 1 (70%).

Setenta e quatro pacientes apresentaram sinais de hipertensão portal no período t-base ou antes dele. Varizes de esôfago foram presentes em 53 pacientes, 8 tinham ascite, 1 tinha encefalopatia hepática e 12 já tinham tido episódios prévios de HDA (tabela 1).

Tabela 1. Análise descritiva da amostra com RVS no t-base (N=112)

	t-base	Valor de p
Idade	$57,5 \pm 9,91$	
Sexo Masculino/ Feminino (%)	70 / 29	<0,0001
Pacientes Retratamento/ Naives (%)	68 / 32	0,0001
Genótipos 1 /2/3 (%)	70 /1 /29	<0,0001
Elastografia Hepática	$26,62 \pm 9,55$	
Varizes de Esôfago (n / %)	56/52	
Ascite prévia (n / %)	8/11	
HDA prévia (n / %)	12/11	
Encefalopatia Hepática prévia (n / %)	1/1	

T-base: início do tratamento, HDA: hemorragia digestiva alta

4.2 Resultados da análise dos Métodos Indiretos de Avaliação da Fibrose Hepática e dos Escores de Função Hepática em pacientes com RVS

Examinou-se os Métodos Indiretos de Avaliação da Fibrose Hepática e os Escores de Função Hepática em 104 pacientes, todos com RVS. Nesses pacientes, ao se avaliar o APRI, FIB4 e MELD por período (t-base e t-RVS), observou-se uma diminuição significativa dessas variáveis no t-RVS. Na tabela 2, encontra-se a descrição das médias de APRI, FIB4 e MELD no t-base e t-RVS. Ao se analisar a

pontuação do Child-Pugh (CP) por período, tem-se que 54 dos pacientes eram Child-Pugh A5 no t-base, aumentando-se essa quantidade no t-RVS para 77. Vinte e cinco pacientes eram Child A6 no t-base diminuindo para 18 no t-RVS. A quantidade de pacientes com Chil B também diminuiu na RVS.

Na figura 2, observou-se os resultados dos valores absolutos da pontuação na classificação de Child-Pugh.

Tabela 2. Descrição da média das variáveis Apri, Fib4 e Meld no t-base e t-RVS em pacientes com RVS (N=104)

	t-base	t-RVS	Valor de p
Apri	2,19 ± 1,97	0,89 ± 0,89	<0,0001
Fib4	5,57 ± 3,38	3,77 ± 2,96	0,0001
Meld	10,3 ± 3,04	9,52 ± 3,14	0,0002

t-base: início de tratamento, t-RVS: resposta virológica sustentada

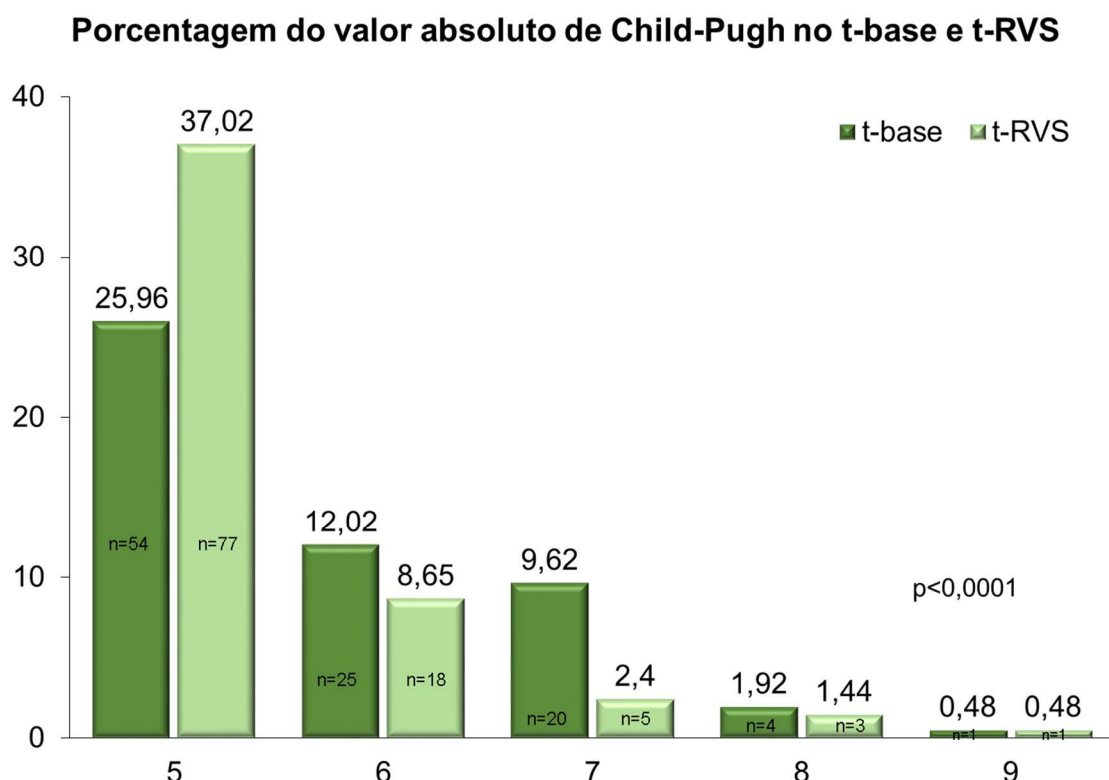


Figura 2. Distribuição do percentual de pacientes distribuídos quanto à pontuação de Child-Pugh em valores absolutos nos períodos t-base e t-RVS (N=104). O teste utilizado foi o modelo linear generalizado com distribuição de Poisson e função de ligação log.

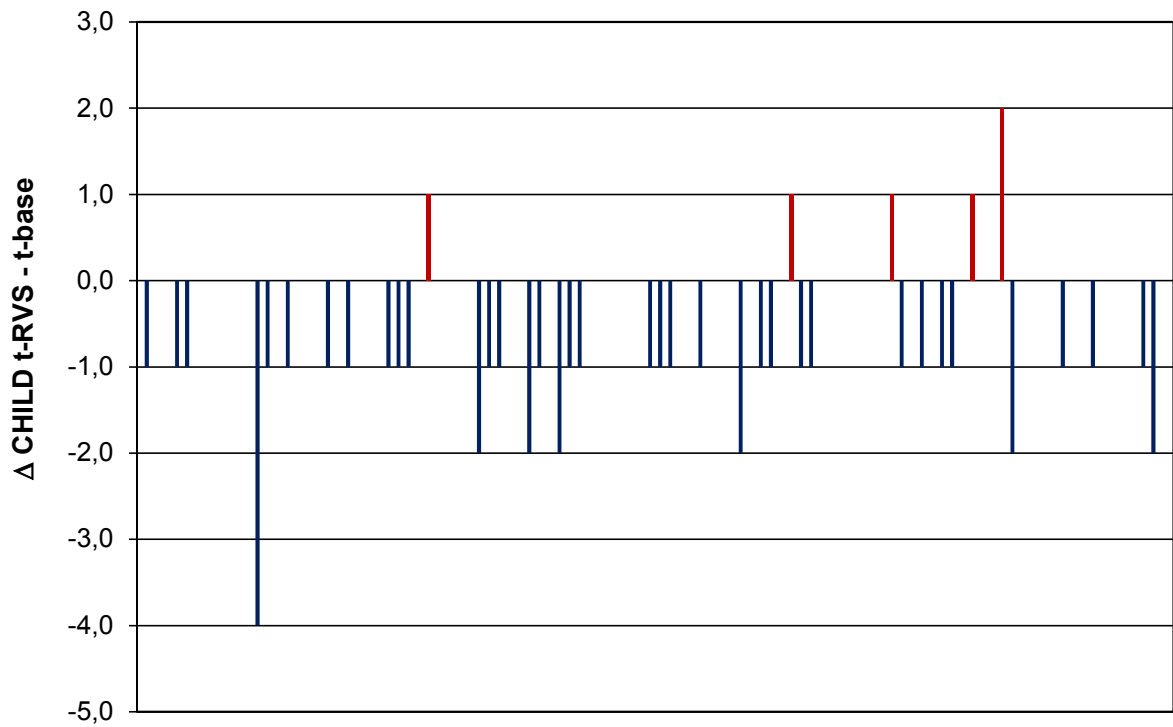


Figura 3. Análise gráfica da diferença dos valores absolutos do CHILD-PUGH (t-RVS menos t-base) N=104.

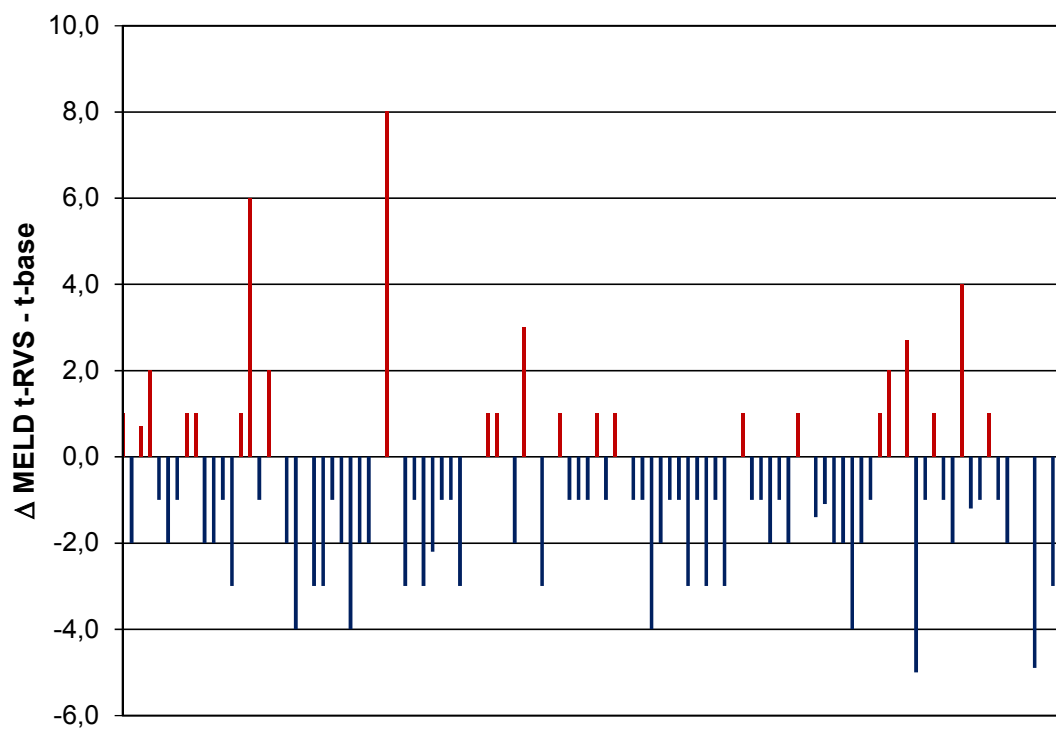


Figura 4. Análise gráfica da diferença dos valores absolutos do MELD (t-RVS menos t-base) N=104.

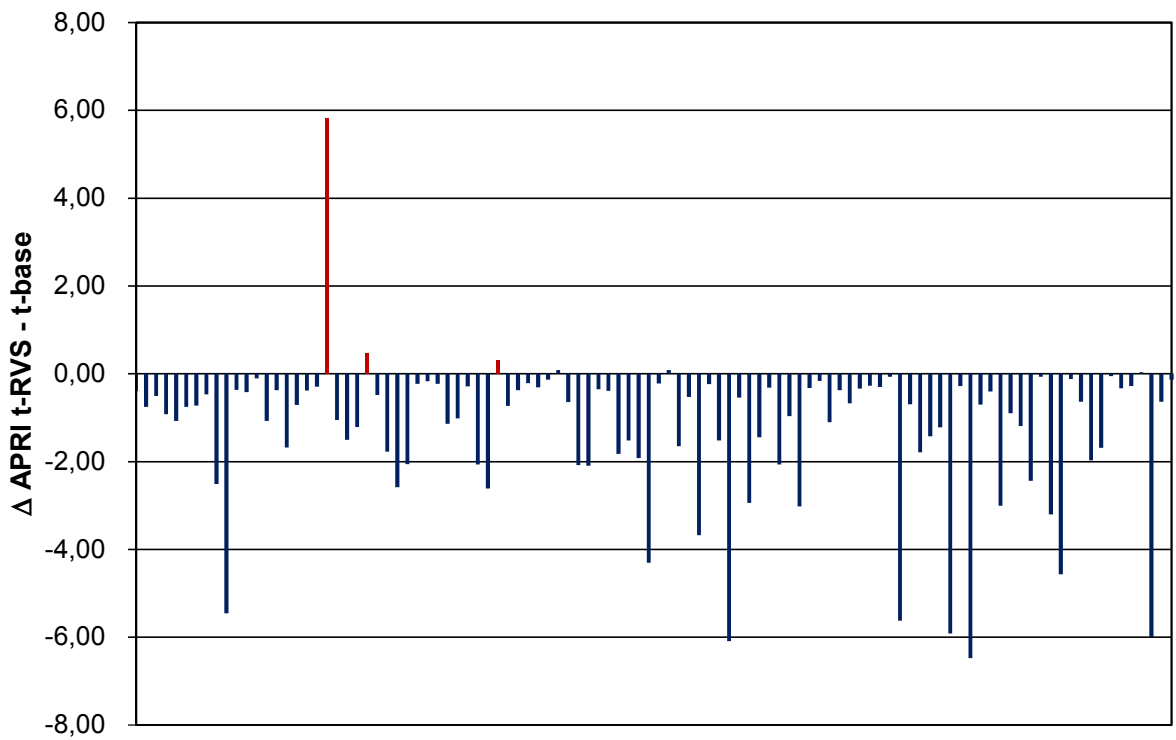


Figura 5. Análise gráfica da diferença dos valores absolutos do Apri (t-RVS menos t-base) N=104.

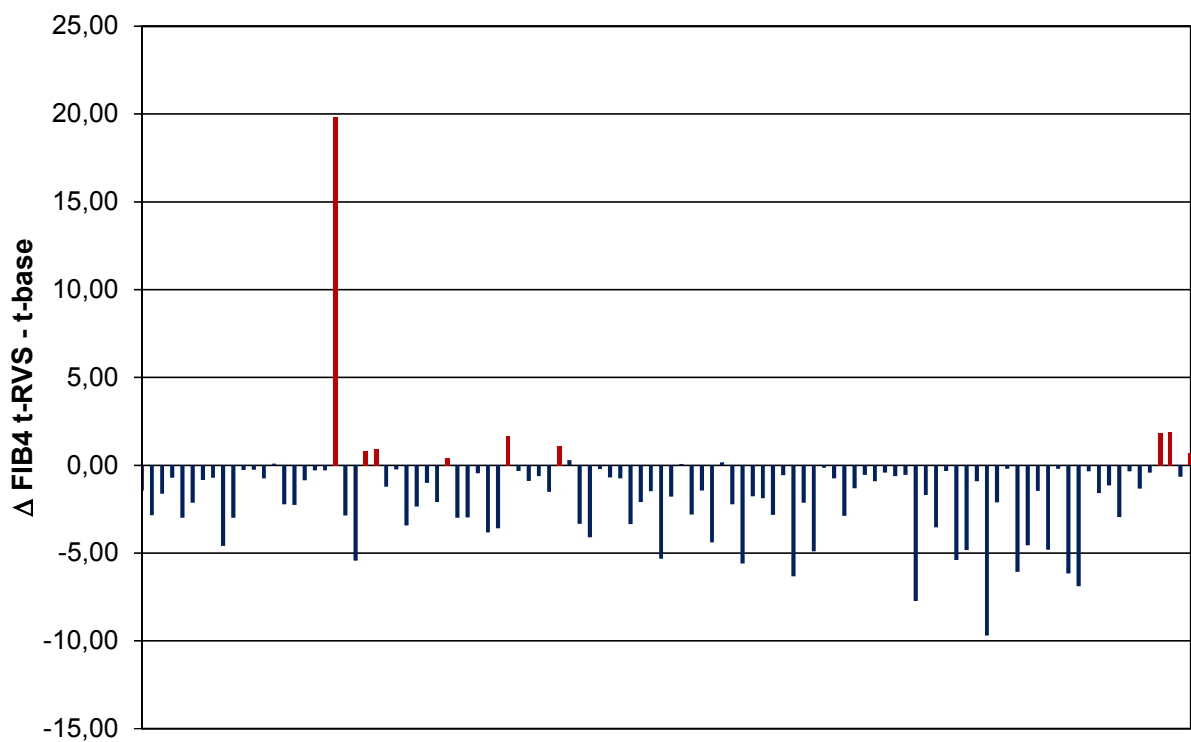


Figura 6. Análise gráfica da diferença dos valores absolutos do FIB4 (t-RVS menos t-base) N=104.

4.3 Resultados de Elastografia Hepática em pacientes RVS

Avaliamos a Elastografia Hepática (ELH) em 42 pacientes. A média de ELH diminuiu significativamente de $27,82 \pm 9,59$ no t-base para $19,26 \pm 9,72$ no t-RVS ($p < 0,001$)

4.4 Resultados da avaliação dos Marcadores Indiretos de Inflamação e comportamento dos Níveis Séricos Lipídicos em pacientes com RVS

Analisou-se a Ferritina Sérica, Alfa Feto Proteína e Lípidos Séricos em 112 pacientes com RVS. A Ferritina e Alfa Feto Proteína diminuíram significativamente no t-RVS. Em relação aos Lípidos Séricos, houve um aumento significativo do Colesterol Total e LDL no t-RVS. Quanto ao Triglicérides, não foi observada diferença estatística. Na tabela 3, encontra-se a descrição das médias da Ferritina Sérica, Alfa Feto Proteína e Lípidos Séricos no t-base e no t-RVS nos pacientes que atingiram a RVS.

Tabela 3. Descrição das médias das variáveis Ferritina sérica, Alfa feto proteína, colesterol Total, LDL e Triglicérides no t-base e t-RVS nos pacientes que atingiram a RVS (n=112).

	t-base (n=112)	t-RVS	Valor de p
Ferritina sérica (ng/mL)	$446,47 \pm 492,94$	$182,67 \pm 173,65$	$<0,0001$
Alfa feto proteína (ng/mL)	$19,62 \pm 57,76$	$5,39 \pm 3,97$	0,0105
Colesterol Total (mg/dL)	$143,25 \pm 33,69$	$153,81 \pm 33,78$	0,0010
LDL (mg/dL)	$75,69 \pm 29,97$	$86,03 \pm 31,22$	0,0036
Triglicérides (mg/dL)	$98,19 \pm 44,97$	$96,59 \pm 50,36$	0,7432

t-base: início de tratamento, t-RVS: resposta virológica sustentada, LDL: lipoproteína de baixa densidade

4.5 Resultados da avaliação do comportamento do HOMA-IR em pacientes Diabéticos com RVS

Avaliamos o HOMA-IR em 84 pacientes que atingiram a RVS. A média do HOMA-IR aumentou de $4,88 \pm 4,11$ no t-base para $5,25 \pm 4,9$ no t-RVS. Esse aumento, contudo, foi sem significância estatística ($p = 0,685$).

Quando excluiu-se os pacientes Diabéticos e que tinham um HOMA-IR menor que 2,5 no t-base, não houve diferença estatística ($p = 0,819$).

5. DISCUSSÃO

5.1 Métodos Indiretos de Avaliação da Fibrose Hepática

A avaliação da atividade inflamatória e estágio de fibrose antes da terapia com o VHC é uma prática comum (e até mesmo necessária) em muitos países para se obter o reembolso da terapia com os AADs.¹¹⁹ Vários testes laboratoriais, escores e índices foram desenvolvidos para o estadiamento não-invasivo da fibrose hepática em pacientes infectados pelo VHC. O índice de relação entre aspartato aminotransferase (AST) e plaquetas (APRI) e FIB4 são dois desses métodos que baseiam-se em parâmetros laboratoriais de rotina e encontram-se prontamente disponíveis na prática clínica por terem elevada acurácia no estadiamento da fibrose.¹²⁰

No presente estudo, tanto a média do APRI quanto a do FIB4 eram indicativas de cirrose hepática^{22,23,24,25} no baseline. Alcançando-se a resposta virológica sustentada, verificou-se redução significativa dessas variáveis. Os presentes achados são semelhantes aos de um estudo onde se avaliou o APRI e FIB4 na RVS de 21 pacientes com HCC genótipo 2 tratados com Sofosbuvir e Ribavirina¹²¹. Tal estudo revelou redução significativa nos escores de avaliação indireta da fibrose hepática na RVS. Esse mesmo estudo também avaliou o APRI e FIB4 em 24 pacientes tratados com Interferon e Ribavirina. Porém, não houve redução significativa desses índices na RVS.

Bachofner et al¹²⁰, ao avaliarem retro-prospectivamente o Apri e Fib4 em pacientes com hepatite C crônica, observaram que todos os tipos de fibrose tratados com os AADs tiveram redução significativa desses escores 12 semanas após o tratamento. Porém, os autores levantaram uma questão sobre essa redução: por mais que os escores tenham demonstrado uma força crível contra poucas mudanças nos valores laboratoriais devido à redução da atividade inflamatória, como as mudanças observadas em um curto período de tempo após o tratamento com os AADs podem refletir a fibrose como supostamente quantificada por APRI e Fib-4? ¹²²

Lima LM ¹²³, realizaram uma análise com 65 pacientes portadores de hepatite C crônica. Foram incluídos pacientes com todos os tipos de fibrose e tratados com Interferon + Ribavirina. O índice Apri foi calculado no período pré

e pós-tratamento. A biópsia hepática foi calculada somente no pré-tratamento. Não foi calculada no pós-tratamento por não fazer parte do protocolo de seguimento em curto prazo dos portadores de hepatite crônica viral C. Esse estudo mostrou que o Apri se correlacionou significativamente com o estadiamento hepático, e, após o tratamento, sua média diminuiu.

Su-Mei Li et al¹²⁴ analisaram a acurácia do APRI em 128 pacientes portadores de hepatite C crônica com todos os tipos de fibrose. Além do APRI, foi realizado biópsia hepática no pré-tratamento. O estudo mostrou que o índice aumentava significativamente conforme a fibrose avançava. Os resultados estão em concordância com Fierbin- teanu-Braticevici et al¹²⁵, os quais também relataram que com o aumento da fibrose o Apri se mostrava mais elevado. Isso revela que APRI pode realmente avaliar os diferentes estágios da fibrose de pacientes com hepatite C crônica.

A Elastografia transitória desempenha um papel fundamental na avaliação da fibrose hepática. A rigidez do fígado é cabível tanto para confirmar fibrose e cirrose, ou confirmando a ausência de fibrose. Ainda assim, a biópsia hepática é necessária porque a análise histológica pode contribuir para o descobrimento da etiologia da doença. Neste caso, um método não invasivo teste não deve substituir uma biópsia hepática, mas pode ser usado para monitorar pacientes previamente biopsiados.¹²⁶

Em nossa análise, houve uma redução significativa da média de ELH nos pacientes que atingiram a RVS. Bachofner et al¹²⁰, avaliaram a Elastografia Transitória 12 meses antes do baseline e 18 meses após o final do tratamento em 496 pacientes tratados com os AADs. Os autores observaram uma redução significativa da média de ELH na RVS comparado com o baseline. A grande questão envolvendo esses resultados é saber se esses valores de ET refletem uma verdadeira regressão da fibrose ou uma diminuição da inflamação e do edema intersticial relacionado. Os autores destacaram ainda que a inclusão de técnicas de Ressonância Magnética na validação da ET como método não invasivo de avaliação da fibrose, permitiria um exame mais aprofundado dos mecanismos da regressão da rigidez hepática, podendo ajudar a diferenciar a regressão real da fibrose de uma mera redução do edema intersticial após o tratamento com os AADs ^{127,128}

Embora a Elastografia seja um método não invasivo válido e eficaz na valiação da fibrose hepática, ela apresenta algumas limitações. A ELH avalia uma porção limitada do fígado, possui baixa aplicabilidade em pacientes obesos, pacientes com espaço estreito entre as costelas, presença de ascite. Além disso, os achados são influenciados por atividade necroinflamatória, presença de congestão hepática, colestase e estado de jejum¹²⁹.

Apesar de evidências crescentes terem sido relatadas para o valor prognóstico da avaliação não invasiva da fibrose hepática, o estadiamento da fibrose ainda possui pouca evidência. Com isso, estudos futuros são necessários para validar esses métodos não invasivos na avaliação da fibrose, já que ainda não existem estudos comparando os resultados desses métodos não invasivos com resultados de biópsia hepática para demonstrar se realmente houve uma regressão ou se foi só uma redução da inflamação¹³⁰.

5.2 Escores de avaliação da Função Hepática

O sistema de pontuação Child-Pugh e MELD são escores utilizados para: estabelecimento de prioridade para transplante de fígado, prognóstico da doença hepática, predição de sobrevida e mortalidade após o transplante.¹³¹

Na presente avaliação, observou-se redução significativa tanto no Child-Pugh quanto ao MELD na RVS, em comparação com o baseline. Nossos resultados estão de acordo com estudos que indicam que os AADs melhoram a função hepática após o tratamento^{132,133,134,135}.

Carrillo et al¹³⁶, avaliaram retrospectivamente 843 pacientes cirróticos tratados com AADs, e mostraram que, no baseline, 564 eram Child-Pugh A com MELD de 8, e 175 eram Child-Pugh B/C com MELD de 13. Na resposta virológica sustentada, 36% dos pacientes apresentaram melhora do MELD e 33% pioraram. A melhora do MELD no baseline foi relacionada com a gravidade da doença hepática, sendo maior nos pacientes com Child-Pugh B/C (56%) do que no A (31%).

5.3 Marcadores Indiretos de Inflamação

A infecção viral pelo VHC pode causar flutuações na AFP, o que dificulta a diferenciação entre a doença hepática e o desenvolvimento do CHC.¹³⁷ A AFP mostrou-se elevada em pacientes sem CHC com infecção pelo VHC e normalizada após o tratamento antiviral com interferon (IFN)¹³⁸. Recentemente, todos os agentes antivirais de ação direta (AADs) substituíram o IFN para o tratamento do VHC. Pacientes com cirrose avançada que não eram candidatos para a terapia antes, agora podem ser tratados por AADs. No entanto, o impacto da resposta virológica sustentada (RVS) na AFP alcançada por AADs em pacientes com cirrose é em grande parte desconhecida.^{139,140}

No presente estudo, foi observada redução significativa da Alfa feto proteína na RVS. Kayo Seo et al ¹⁴¹, ao compararem dois tipos de tratamento (sofosbuvir + ribavirina e interferon + ribavirina), mostraram que a alfa feto proteína não reduziu significativamente na RVS em nenhum dos dois tratamentos em pacientes com hepatite c crônica. Chen TM et al⁵⁹ avaliaram a alfa feto proteína em 83 pacientes sem CHC tratados com Interferon e RBV. AFP diminuiu progressiva e significativamente a partir da 12^a semana após o início do tratamento até o final do tratamento, sendo menor na RVS. Nos pacientes infectados pelo vírus C, a proteína nuclear codificante do VHC é uma das proteínas responsáveis pela hepatocarcinogênese, na qual regula várias moléculas ativando do ciclo celular nos hepatócitos¹⁴², além de regular a produção de AFP ao nível da transcrição. Por outro lado, o IFN consegue regular negativamente a progressão do ciclo celular ao nível transcricional e induzir a apoptose através das vias de sinalização dos transdutores de sinal e ativadores de transcrição mediada pelos receptores de IFN ¹⁴³. Essa ação competitiva do IFN contra a proteína do VHC pode ser um mecanismo anticancerígeno direto que inibe o CHC. Em relação ao grupo não-RVS não foi observada alteração de AFP durante e após o tratamento. Os autores sugerem que a AFP diminuiu de uma forma dependente do tempo no grupo RVS, e essa melhora continuou após o final do tratamento com IFN. Os resultados demonstraram que as diferenças nos níveis de AFP entre os grupos RVS e não-RVS foram mais marcantes nos tempos de fim do tratamento e fim do seguimento.

Kelvin Nguyen et al¹⁴⁴ avaliaram retrospectivamente a alfa feto proteína em 56 pacientes cirróticos tratados com AADs. Foi observada redução significativa dessa variável na RVS. Os autores destacaram um fato importante de como a inflamação do fígado provavelmente aumenta os valores de AFP na ausência de CHC. A eliminação da inflamação através da RVS deve tornar a AFP mais específica para o diagnóstico de CHC. A gravidade da doença hepática avaliada por MELD, FIB4 e do APRI não foram associados à redução da AFP ao longo do tempo.

A ferritina sérica pode ser um marcador prognóstico em pacientes com doenças hepáticas, pois está amplamente disponível e suas concentrações estão correlacionadas com as lesões histológicas hepáticas em pacientes com doenças hepáticas sem hemocromatose, como a doença hepática gordurosa não alcoólica, doença hepática alcoólica e virais.^{145,146}

Carvalho JR et al¹⁴⁷, ao avaliarem 105 pacientes com hepatite c crônica tratados com AADs, demonstraram uma redução significativa nos níveis de ferritina na RVS, sendo esse resultado semelhante aos do presente estudo. Ao compararem a Ferritina em um grupo de 73 pacientes tratados com Interferon e Ribavirina, não foi observada uma variação significativa na RVS. Outro estudo ¹⁴⁸ avaliando os níveis séricos de Ferritina em pacientes com HCC tratados com IFN mais RBV, observaram que os níveis séricos de ferritina aumentaram e atingiram o pico entre 4 e 12 semanas após o início da terapia, permaneceu alta até o final do período de tratamento, e retornou aos níveis basais após a conclusão do tratamento. Esse aumento da ferritina sérica em pacientes com RVS foi significativamente maior do que nos não RVS. Embora os autores não tenham investigado parâmetros envolvendo hemólise ou concentração de RBV, assim como em nossa análise, eles destacam que a correlação entre níveis crescentes de ferritina e a taxa de RVS pode estar relacionada com a hemólise e/ou concentração de RBV. Além disso, a ferritina sérica elevada pode ter sido causada por uma resposta reativa de macrófagos para INF¹⁴⁹.

Ripoll et al¹⁵⁰ avaliaram a relação entre sobrecarga de ferro, insuficiência hepática e hipertensão portal em 51 pacientes cirróticos. Eles demonstraram que os níveis séricos de ferritina foram associados a marcadores de insuficiência hepática, inflamação e disfunção circulatória, mas não de hipertensão

portal. Existe uma relação entre níveis séricos de ferritina elevada e pontuações altas de Child-Pugh e MELD ^{151,152}. Os autores sugerem duas hipóteses para a sobrecarga de ferro e sua relação com insuficiência hepática. Uma delas é de que pacientes com ascite tivessem translocação bacteriana e aumento da inflamação levando a um aumento da ferritina. Neste estudo, os autores observaram valores significativamente maiores de ferritina em pacientes com ascite em comparação com pacientes sem ascite. A segunda hipótese é a de que a insuficiência hepática poderia levar a uma redução na produção hepática de hepcidina e uma diminuição na absorção de ferro pelo intestino. Essa sobrecarga de ferro, poderia ter um impacto na doença hepática, principalmente na hipertensão portal. Entretanto, os autores não puderam confirmar essas hipóteses com os resultados do estudo, já que não houve associação entre hipertensão portal e ferritina.

5.4 Alterações nos Níveis Séricos Lipídicos

A infecção crônica pelo VHC está frequentemente associada à esteatose hepática, ou seja, acúmulo de gordura nos hepatócitos, o que evidencia uma ligação entre o VHC e o metabolismo lipídico do fígado. Os lípides hospedeiros, assim como as organelas de armazenamento para lípidos neutros, gotículas lipídicas, desempenham um papel vital no ciclo do VHC. Em comparação com outros vírus, partículas virais isoladas do sangue de pacientes infectados são de baixa densidade e estão fortemente associadas a lipoproteínas e, portanto, foram denominadas lipovirpartículas.¹⁵³

Nesta presente avaliação de Lípidos Séricos, constatou-se que o Colesterol Total e LDL aumentaram significativamente na RVS, resultado que está em concordância com a literatura. Carvalho JR¹⁴⁷, ao avaliar os Lípidos Séricos em 105 pacientes tratados com AADs, encontrou resultados semelhantes aos da presente avaliação. O CT e LDL também aumentaram significativamente na RVS e o TG diminuiu.

Porém, neste atual estudo não foi observada uma redução significativa do TG. Quando incluídos os demais tipos de fibrose, o TG diminuiu significativamente na RVS. Andrade VG et al¹⁵⁴ avaliaram o comportamento dos

lípidos na RVS de 102 pacientes tratados com os AADs, onde foram incluídos todos os graus de fibrose hepática. Nessa análise, observou-se uma redução significativa do TG, assim como elevação do CT e LDL na RVS.

Daisuke Endo et al.¹⁵⁵ avaliaram as mudanças nos Lípidos Séricos na RVS de 276 pacientes infectados cronicamente pelo vírus C, genótipo 1, tratados com AADs. Eles observaram que o CT e LDL aumentaram significativamente na RVS e o TG não teve mudanças significativas. Os autores discutem um fato importante: o cancelamento do efeito supressivo da infecção crônica pelo VHC no metabolismo lipídico pode ter sido a causa do aumento do CT. Fora isso, esses dados indicaram que o LDL-C foi o principal contribuinte (75% - 80%) para o aumento do CT, sugerindo que o aumento do colesterol nessa situação é considerado primariamente um aumento no LDL-C.

Meissner et al.,⁸⁴ avaliando 55 pacientes Naives (GTP 1) tratados com sofosbuvir e ribavirina, encontraram aumento de LDL e diminuição de TG no pós-tratamento, independentemente do alcance ou não da RVS. No entanto, não foram encontradas alterações significativas no CT.

O aumento do LDL e CT na RVS aparenta ser a volta aos níveis reais dessas lipoproteínas que os pacientes teriam sem o vírus da Hepatite C. A proteína do núcleo do VHC diminui a expressão do receptor alfa ativado por proliferadores de peroxissoma (PPAR-alfa), um receptor nuclear que regula vários genes responsáveis pela degradação dos ácidos graxos¹⁵⁶. Os pacientes infectados pelo vírus C tem níveis mais baixos do que o normal de PPAR ARN mensageiro alfa no fígado^{157,158}. Tem sido sugerido que a proteína do núcleo do VHC inibe a atividade da proteína de transferência do TG microsomal¹⁵⁹ responsável pela transferência dos TGs para a ApoB, permitindo a formação do VLDL. A inibição desta enzima resultaria, portanto, no acúmulo de TG.

5.5 Comportamento do HOMA-IR no t-RVS em pacientes com RVS

A infecção crônica pelo vírus da hepatite C (HCC) é um fator de risco para o desenvolvimento de resistência insulínica (RI) e diabetes tipo 2 (DM2)¹⁶⁰. A alta prevalência de DM2 foi documentada entre pacientes portadores de VHC com

população geral ou outras causas de doença crônica¹⁶¹. Sabe-se que existe uma relação entre HCC e RI. Um estudo mostrou que a prevalência de DM2 em pacientes cirróticos com HCC foi significativamente maior do que naqueles com cirrose resultante de condições diferentes do HCC¹⁶².

A prevalência de infecção pelo vírus da hepatite C (VHC) em pacientes diabéticos é maior do que na população geral, variando de 5% a 12%^{163,164}. A hiperglicemia crônica causa danos, disfunção e falência múltipla de órgãos, como olhos, rins, nervos, corações e vasos sanguíneos. As bases dessas anormalidades estão no metabolismo dos carboidratos, lipídios e proteínas, e é a ação deficiente da insulina em agir sobre os tecidos-alvo. Alguns sintomas da DM2 são poliúria, polidipsia, visão turva e suas complicações são retinopatia com potencial perda de visão, insuficiência renal, neuropatia com risco de amputação, eventos cardiovasculares e disfunção erétil¹⁶⁵.

Em nossa análise, avaliamos o HOMA-IR em pacientes cirróticos com Diabetes não insulino dependentes no t-base e t-RVS. A média do HOMA-IR no t-base foi indicativa de RI (4,88) e essa resistência permaneceu mesmo após o alcance da RVS (5,25). O estado pós-tratamento da homeostase da glicose em pacientes com HCC e diabéticos é uma questão intrigante devido ao efeito diabetogênico do VHC per se. A erradicação bem sucedida do VHC após a terapia antiviral impediria o desenvolvimento de RI de novo entre os pacientes não diabéticos a longo prazo¹⁶⁶. Os medicamentos anti-diabéticos orais usados pelos pacientes eram glibenclamida, glimepirida e metformina. Uma possível explicação para a permanência da RI na RVS, tenha sido o efeito secretagogo de insulina da glibenclamida e glimepirida. Jeef-Fu Huang et al.⁵⁴, avaliaram o HOMA-IR de 65 pacientes taiwaneses nativos com hepatite C crônica e DM tratados com AADs. Os autores observaram que os níveis de HOMA-IR diminuíram na RVS em comparação com o baseline, porém, sem diferença estatística. Um HOMA-IR maior que 2,5 foi usado como indicativo de RI. Apesar dos pacientes apresentarem resistência insulínica no baseline, isso não afetou o curso do tratamento e o alcance da RVS.

Com o uso da terapia baseada em Interferon, observava-se uma melhora da Resistência Insulínica e do metabolismo da glicose na RVS. Muitos estudos descobriram uma diminuição na taxa de anormalidades da glicose em

pacientes com VHC que atingiram a RVS após a terapia baseada no IFN¹⁶⁷, sugerindo um papel direto / indireto do VHC no comprometimento do metabolismo da glicose.

Quando excluiu-se todos os pacientes diabéticos da análise e aqueles com um HOMA-IR menor que 2,5 não houve diferença estatística entre os períodos. Adinolfi et al¹⁶⁸ avaliaram o impacto da RVS na resistência insulínica em 133 pacientes genótipo 1 e fibrose avançada sem diabetes. O valor de HOMA-IR usado para determinar RI foi de 2,6. No baseline, os pacientes tinham resistência insulínica que diminuiu significativamente na RVS, mostrando uma melhora no metabolismo da glicose. Os autores supõem que a eliminação do vírus C através do uso dos AADs melhorando a RI e reduzindo o estresse da célula beta, poderia prevenir ou retardar o desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2 e / ou síndrome metabólica em pacientes infectados cronicamente pelo vírus C. Foi demonstrado que os pacientes que atingiram a RVS após o uso de IFN, apresentaram uma incidência de diabetes tipo 2 duas a três vezes menor em comparação com aqueles que não atingiram a RVS¹⁶⁹.

É sabido que a RI em pacientes com VHC está correlacionada com a síndrome metabólica, e níveis reduzidos de adiponectinemia¹⁷⁰. Além disso, a RI contribui para o aumento da rigidez da parede do vaso¹⁷¹ e do estresse oxidativo¹⁷². Com isso, o alcance da RVS poderia melhorar os eventos cardiovasculares relacionados à ela. Tem sido relatado que pacientes com VHC que negativaram o vírus com terapia baseada em IFN tiveram uma incidência e taxa de mortalidade reduzidas para mortalidade cardiovascular e não relacionada ao fígado em pacientes com VHC^{173,174}.

Não há consenso sobre o valor de corte para o diagnóstico de RI^{175,176}. Alguns estudos utilizam um valor de HOMA-IR entre 1,5 e 3,0 para determinar a resistência à insulina^{177,178,179, 180}. No Brasil, houve um estudo populacional de pacientes não diabéticos sem infecção pelo HCV do Estudo Brasileiro de Síndrome Metabólica¹⁸¹ no qual o nível ideal de diagnóstico de HOMA-IR foi entre 2,3 e 2,7, o que é próximo ao nível usado na atual avaliação.

6. CONCLUSÃO

Os escores de Avaliação Indireta da Fibrose Hepática diminuíram significativamente em pacientes cirróticos com RVS tratados com AADs. Os escores de avaliação da Função Hepática também melhoraram significativamente nessa população. A Ferritina Sérica e Alfa Feto proteína diminuíram significativamente em pacientes cirróticos com RVS tratados com AADs. Avaliando os Lípides Séricos, observamos um aumento significativo nos níveis séricos de CT e LDL. Quanto aos níveis séricos de TG não observamos mudanças significativas. Houve uma redução significativa da média de Elastografia Hepática na RVS. A média do HOMA-IR aumentou no t-RVS, porém sem significância estatística.

7. REFERÊNCIAS

1. World Health Organization;2018.Availablefrom:<http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c>
2. Westbrook, Rachel H, Geoffrey Dusheiko. "Natural History of Hepatitis C." *Journal of Hepatology*.2014; 61:S58-68.
3. Bataller R, Brenner D.A. Liver fibrosis. *J. Clin. Invest.* 2005;115(2):209-218
4. Zimmer V, Lammert F. Genetics and epigenetics in the fibrogenic evolution of chronic liver diseases. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2011;25(2):269-280.
5. Garcia-Tsao G, Bosch J, Groszmann RJ. Portal hypertension and variceal bleeding-unresolved issues. Summary of an American Association for the Study of Liver Diseases and European Association for the Study of the Liver single-topic conference. *Hepatology.* 2008; 47:1764-72.
6. Zipprich A, Garcia-Tsao G, Rogowski S, Fleig WE, Seufferlein T, Dollinger MM. Prognostic indicators of survival in patients with compensated and decompensated cirrhosis *Liver Int.* 2012;32:1407-14.
7. Lee MH, Yang HI, Lu SN, et al. Chronic hepatitis C virus infection increases mortality from hepatic and extrahepatic diseases: a community-based long-term prospective study. *J Infect Dis.*2012;206: 469-77.
8. Child III CG, Turcotte JG. Surgery and portal hypertension. In: Child III CG, ed. *The Liver and Portal Hypertension.* Philadelphia: Saunders. 1964;50.
9. Conn HO. A peek at the Child-Turcotte classification. *Hepatology.* 1981; 1:673-676.
10. Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg.*1973; 60:646-649.
11. Brown RS, Kumar KS, Russo MW, Kinkhabwala M, Rudow DL, Harren P et al. Model for end-stage liver disease and Child-Turcotte-Pugh score as predictors of pretransplantation disease severity, post transplantation outcome, and

resource utilization in United Network for Organ Sharing status 2A patients. *Liver Transpl.* 2002;8:278-84.

12. Cheng SJ, Freeman RB, Wong JB. Predicting the probability of progression-free survival in patients with small hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl.* 2002;8:323-8.
13. Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M, Kremers W, Therneau TM, Kosberg CL et al. A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology.* 2001;33:464-70
14. Saab S, Wang V, Ibrahim AB, Durazo F, Han S, Farmer DG et al. MELD score predicts 1-year patient survival post-orthotopic liver transplantation. *Liver Transpl.* 2003;9:473-6.
15. Malinchoc M, Kamath PS, Gordon FD, Peine CJ, Rank J, terBorg PL. A model to predict poor survival in patients undergoing transjugular intra-hepatic portosystemic shunts. *Hepatology.* 2000;31:864-871
16. Grogan TA. Liver transplantation: issues and nursing care requirements. *Crit Care Nurs Clin North Am.* 2011; 23(3):443-56.
17. Sebastiani G, Alberti A. Non Invasive fibrosis biomarkers reduce but not substitute the need for liver biopsy. *World J Gastroenterol.* 2006;12(23)3682-94
18. Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy. *N Engl J Med.* 2001;344:495-500
19. Al Knawy B, Shiffman M. Percutaneous liver biopsy in clinical practice. *Liver Int.* 2007;27(9):1166-73
20. Bedossa P, Poinard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. *Hepatology.* 1996; 24:289-93
21. The French METAVIR Cooperative Study Group. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 1994; 20:1:15-20
22. Lin ZH, Xin YN, Dong QJ, Jiang XJ, Zhan SH, Xuan SY. Performance of the

- aspartate aminotransferase to platelet ratio index for the staging of hepatitis C related fibrosis an updated meta analysis. *Hepatology*.2011;53(3):726-36
23. 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;38:518-26
 24. Sterling R, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J et al. APRICOT Clinical Investigators. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*. 2006;43(6):1317-25
 25. Vallet Pichard A, Mallet V, Nalpas B, Dhalluin-Venier V, Fontaine H, Pol S. An inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection comparison with liver biopsy and fibrotest. *Hepatology*.2007;46:32-6
 26. European Association for Study of L, Asociacion Latinoamericana Para El Estudio Del H. EASL- ALEH Clinical Practice Guidelines: non- invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *J Hepatol*. 2015;63:237-264.
 27. Chou R, Wasson N. Blood tests to diagnose fibrosis or cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Ann Intern Med*. 2013;159:372.
 28. Talwalkar JA, Kurtz DM, Schoenleber SJ et al. Ultrasound-based transient elastography for the detection of hepatic fibrosis: systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 1214-20.
 29. CasteraL, Vergniol J, Foucher J et al. Prospective comparison of transient elastography, FibroTest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2005; 128: 343-350
 30. Friedrich-Rust M, Ong MF, Herrmann E et al. Real-time elastography for noninvasive assessment of liver fibrosis in chronic viral hepatitis. *AJR Am J Roentgenol*. 2007;188:758-64

31. Popescu A, Sporea I, Focsa M et al. Assessment of Liver Fibrosis by Real-time Sono Elastography (Hitachi) as Compared to Liver Biopsy and Transient Elastograph. *Ultrasound in medicine and biology*. 2009; Suppl.8 (35):S152
32. Friedrich-Rust M, Ong MF, Martens S, et al. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: a meta- analysis. *Gastroenterology*. 2008;134:960-974.
33. Degos F, Perez P, Roche B, et al. Diagnostic accuracy of FibroScan and comparison to liver fibrosis biomarkers in chronic viral hepatitis: a multicenter prospective study (the FIBROSTIC study). *J Hepatol*. 2010;53:1013-1021.
34. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman M, Reindollar R et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet*. 2001;358(9286):958-65.
35. Silva GF, Nishimura NF, Coelho KIR, Soares EC. Grading and Staging Chronic Hepatitis C and Its Relation to Genotypes and Epidemiological Factors in Brazilian Blood Donors. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* 2005.
36. Silva GF, Polonio RJ, Pardini MIM, Corvino SM, Henriques RMS, Peres MN et al. Using Pegylated Interferon alfa-2b and Ribavirin to Treat Chronic Hepatitis Patients Infected with Hepatitis C Virus Genotype 1: Are Nonresponders and Relapsers Different Populations?. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* 2007;11(6):554-56
37. 37-Silva GF, Villela-Nogueira CA, Mello CE, Soares EC, Coelho HS2 Ferreira PR et al. Peginterferon plus ribavirin and sustained virological response rate in HCV-related advanced fibrosis: a real life study. *Braz J Infect Dis*. 2014;18(1):48-52. doi: 10.1016/j.bjid.2013.05.007.
38. Asselah T & Marcellin P. New direct-acting antivirals' combination for the treatment of chronic hepatitis C. *Liver International*. 2001;1478-3223

39. Ministério da Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções. Brasília. 2018
40. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signaling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*. 2001;414:799-806.
41. Biddinger SB, Kahn CR. From mice to men: insights into the insulin resistance syndromes. *Annu Rev Physiol*. 2006; 68: 123-158.
42. Eslam M, Khattab MA, Harrison SA. Insulin resistance and hepatitis C: an evolving story. *Gut* 2011; 60: 1139-1151.
43. Bugianesi E, McCullough AJ, Marchesini G. Insulin resistance: a metabolic pathway to chronic liver disease. *Hepatology*. 2005; 42: 987-1000.
44. Wang CS, Wang ST, Yao WJ, Chang TT, Chou P. Community-based study of hepatitis C virus infection and type 2 diabetes: an association affected by age and hepatitis severity status. *Am J Epidemiol*. 2003;158:1154-60.
45. Koren S, Fantus IG. Inhibition of the protein tyrosine phosphatase PTP1B: potential therapy for obesity, insulin resistance and type-2 diabetes mellitus. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2007; 21: 621-640.
46. Miyamoto H, Moriishi K, Moriya K, et al. Involvement of the PA28 gamma-dependent pathway in insulin resistance induced by hepatitis C virus core protein. *J Virol* 2007; 81: 1727-1735.
47. Bugianesi E, Marchesini G, Gentilcore E, Cua IH, Vanni E, Rizzetto M, et al. Fibrosis in genotype 3 chronic hepatitis C and nonalcoholic fatty liver disease: Role of insulin resistance and hepatic steatosis. *Hepatology*. Dec 2006;44(6):1648-55.
48. Poustchi H, Negro F, Hui J, Cua IH, Brandt LR, Kench JG, et al. Insulin resistance and response to therapy in patients infected with chronic hepatitis C virus genotypes 2 and 3. *J Hepatol*. 2008;48(1):28-34.
49. Leandro G, Mangia A, Hui J, Fabris P, Rubbia-Brandt L, Colloredo G et al. Relationship between steatosis, inflammation, and fibrosis in chronic hepatitis

C: a metaanalysis of individual patient data: *Gastroenterology*. May 2006;130(6):1636-42

50. Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB, et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. *Diabetes Care*. Jan 2000;23(1):57-63.
51. Sheikh MY, Choi J, Qadri I, Friedman JE, Sanyal AJ. Hepatitis C virus infection: molecular pathways to metabolic syndrome. *Hepatology*. Jun 2008; 47(6):2127-33.
52. Romero-Gomez M, Del Mar Vilorio M, Andrade RJ, Salmeron J, Diago M, Fernandez-Rodriguez CM, et al. Insulin resistance impairs sustained response rate to peginterferon plus ribavirin in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterology*. Mar 2005;128(3):636-41.
53. Willems SB, Baak LC, Kuiken SD, van der Sluis Veer A, Lettinga KD, van der Meer JT, et al. Sofosbuvir plus simeprevir for the treatment of HCV genotype 4 patients with advanced fibrosis or compensated cirrhosis is highly efficacious in real life. *J Viral Hepat*. 2016.
54. Huang JF, Huang CF, Yeh ML, Dai CY, Hsieh MH, Yang JF et al. The outcomes of glucose abnormalities in chronic hepatitis C patients receiving interferon-free direct antiviral agents. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences*. 2017;33: 567-571
55. El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma and hepatitis C in the United States. *Hepatology*. 2002; 36:S74-S83.
56. Sato Y, Nakata K, Kato Y, Shima M, Ishii N, Koji T, et al. Early recognition of hepatocellular carcinoma based on altered profiles of alpha-fetoprotein. *N Engl J Med*. 1993; 328:1802-1806.
57. Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, et al. Predictors of viral kinetics to peginterferon plus ribavirin combination therapy in

- Japanese patients infected with hepatitis C virus genotype 1b. *J Med Virol.* 2007; 79:1686-1695.
58. Tateyama M, Yatsunami H, Taura N, Motoyoshi Y, Nagaoka S, Yanagi K, et al. Alpha-fetoprotein above normal levels as a risk factor for the development of hepatocellular carcinoma in patients infected with hepatitis C virus. *J Gastroenterol.* 2011; 46:92-100.
 59. Chen TM, Huang PT, Tsai MH, Lin LF, Liu CC, Ho KS, et al. Predictors of alpha-fetoprotein elevation in patients with chronic hepatitis C, but not hepatocellular carcinoma, and its normalization after pegylated interferon alfa 2a-ribavirin combination therapy. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007;22:669-675. doi: 10.1111/j.1440-1746.2007.04898.x.
 60. Takayama K, Furusyo N, Ogawa E, Ikezaki H, Shimizu M, Murata M, et al. Direct-acting antiviral-based triple therapy on alpha-fetoprotein level in chronic hepatitis C patients. *World J Gastroenterol.* 2015; 21:4696-4706. doi: 10.3748/wjg.v21.i15.4696.
 61. Prieto J, Barry M, Sherlock S. Serum ferritin in patients with iron overload and with acute and chronic liver diseases. *Gastroenterology.* 1975;68:525-533.
 62. Harrison PM, Arosio P. The ferritins: molecular properties, iron storage function and cellular regulation. *Biochim Biophys Acta.* 1996;1275:161-203.
 63. Hearnshaw S, Thompson NP, McGill A. The epidemiology of hyperferritinaemia. *World J Gastroenterol.* 2006;12:5866-5869.
 64. Kuhn LC. How iron controls iron. *Cell Metabolism.* 2009;10:439-441.
 65. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J et al. Heparin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science.* 2004;306:2090-2093.
 66. Detivaud L, Nemeth E, Boudjema K, et al. Heparin levels in humans are correlated with hepatic iron stores, hemoglobin levels, and hepatic function. *Blood.* 2005;106:746-748.

67. Ryan JD, Chin JL, Crowe J. Ferritin in decompensated cirrhosis: iron or inflammation? *J Hepatol.* 2015;62:499-500.
68. Bonkovsky HL, Banner BF, Rothman AL. Iron and chronic viral hepatitis. *Hepatology.* 1997;25:759-68.
69. Martinelli AL, Ramalho LN, Zucoloto S. Hepatic stellate cells in hepatitis C patients: Relationship with liver iron deposits and severity of liver disease. *J Gastroenterol Hepatol.* 2004;19:91-8.
70. Ramm GA, Ruddell RG. Hepatotoxicity of iron overload: mechanisms of iron-induced hepatic fibrogenesis. *Sem Liver Dis.* 2005;25:433-49.
71. Lange CM, Kutalik Z, Morikawa K, Bibert S, Cerny A, Dollenmaier G et al. Serum ferritin levels are associated with a distinct phenotype of chronic hepatitis C poorly responding to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy. *Hepatology.* 2012; 55:1038-1047.
72. Di Bisceglie AM, Axiotis CA, Hoofnagle JH, Bacon BR. Measurements of iron status in patients with chronic hepatitis. *Gastroenterology.* 1992; 102:2108-2113.
73. Bonkovsky HL. Iron as a comorbid factor in chronic viral hepatitis. *Am J Gastroenterol.* 2002;97:1-4.
74. Bonkovsky HL, Troy N, McNeal K, Banner BF, Sharma A, Obando J et al. Iron and HFE or TfR1 mutations as comorbid factors for development and progression of chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2002; 37:848-854.
75. Bonkovsky HL, Naishadham D, Lambrecht RW, Chung RT, Hoefs JC, Nash SR et al. Roles of iron and HFE mutations on severity and response to therapy during retreatment of advanced chronic hepatitis C. *Gastroenterology.* 2006; 131:1440-1451.
76. Drakesmith H, Prentice A. Viral infection and iron metabolism. *Nat Rev Microbiol.* 2008; 6:541-552.

77. Prince AM, Huima-Byron T, Parker TS, Levine DM. Visualization of hepatitis C virions and putative defective interfering particles isolated from low-density lipoproteins. *J Viral Hepat.*1996;3:11-17 [PMID: 8736235 DOI: 10.1111/j.1365-2893.1996.tb00075.x]
78. André P, Komurian-Pradel F, Deforges S, Perret M, Berland JL, Sodoyer M, et al. Characterization of low- and very-low-density hepatitis C virus RNA-containing particles. *J Virol.* 2002;76:6919-28. doi: 10.1128/JVI.76.14.6919-6928.200
79. Meunier JC, Russell RS, Engle RE, Faulk KN, Purcell RH, Emerson SU. Apolipoprotein c1 association with hepatitis C virus. *J Virol.* 2008;82:9647-9656. doi: 10.1128/JVI.00914-08
80. Benga WJ, Krieger SE, Dimitrova M, Zeisel MB, Parnot M, Lupberger J, et al. Apolipoprotein E interacts with hepatitis C virus nonstructural protein 5A and determines assembly of infectious particles. *Hepatology.* 2010;51:43-53. doi: 10.1002/hep.23278
81. Tada S, Saito H, Ebinuma H, Ojiro K, Yamagishi Y, Kumagai N et al. Treatment of hepatitis C virus with peg-interferon and ribavirin combination therapy significantly affects lipid metabolism. *Hepatol Res.*2009;39: 195-199 [PMID: 19054155 DOI: 10.1111/j.1872034X.2008.00439.x]
82. Lange CM, von Wagner M, Bojunga J, Berg T, Farnik H, Hassler A et al. Serum lipids in European chronic HCV genotype 1 patients during and after treatment with pegylated interferon- α -2a and ribavirin. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2010; 22: 1303-1307 [PMID: 20729742 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32833de92c]
83. Meissner EG, Lee YJ, Osinusi A, Sims Z, Qin J, Sturdevant D et al. Effect of sofosbuvir and ribavirin treatment on peripheral and hepatic lipid metabolism in chronic hepatitis C virus, genotype 1-infected patients. *Hepatology.* 2015;61: 790-801 [PMID: 25203718 DOI: 10.1002/hep.27424]

84. Arase Y, Kobayashi M, Suzuki F, Suzuki Y, Kawamura Y, Akuta N, et al. Effect of type 2 diabetes on risk for malignancies includes hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2013;57:964-973.
85. Bruno S, Di Marco V, Lavarone M, Roffi L, Crosignani A, Calvaruso V, et al. Survival of patients with HCV cirrhosis and sustained virologic response is similar to the general population. *J Hepatol*. 2016;64:1217-1223.
86. Bailly F, Pradat P, Virlogeux V, Zoulim F. Antiviral Therapy in Patients with Hepatitis C Virus-Induced Cirrhosis. *Dig Disease*. 2015;33(4):613-23.
87. Moon C, Jung KS, Kim DY, et al. Lower Incidence of Hepatocellular Carcinoma and Cirrhosis in Hepatitis C Patients with Sustained Virological Response by Pegylated Interferon and Ribavirin. *Digestive Diseases and Sciences*. 2014; 60:573-581.
88. Di Marco V, Almasio PL, Ferraro D, et al. Peg-interferon alone or combined with ribavirin in HCV cirrhosis with portal hypertension: a randomized controlled trial. *J Hepatol*. 2007; 47: 484-91.
89. Bruno S, Crosignani A, Facciotto C, et al. Sustained virologic response prevents the development of esophageal varices in compensated, Child-Pugh class A hepatitis C virus-induced cirrhosis. A 12-year prospective follow-up study. *Hepatology*. 2010; 51: 2069-76.
90. Poynard T, McHutchison J, Manns M, et al. Impact of pegylated interferon alfa-2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2002;122:1303-1313.
91. Morgan RL, Baack B, Smith BD, Yartel A, Pitasi M, Falck-Ytter Y. Eradication of hepatitis C virus infection and the development of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis of observational studies. *Ann Intern Med*. 2013;158:329-337.
92. Van der Meer AJ, Veldt BJ, Feld JJ, et al. Association between sustained virological response and all-cause mortality among patients with chronic hepatitis C and advanced hepatic fibrosis. *JAMA*. 2012;308:2584- 2593.

93. Veldt BJ, Heathcote EJ, Wedemeyer H, et al. Sustained virologic response and clinical outcomes in patients with chronic hepatitis C and advanced fibrosis. *Ann Intern Med.* 2007;147:677-684.
94. Morgan TR, Ghany MG, Kim HY, et al. HALT-C Trial Group. Outcome of sustained virological responders with histologically advanced chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2010;52:833-844.
95. Haseltine EL, Penney MS, George S, Kieffer TL. Successful treatment with telaprevir-based regimens for chronic hepatitis C results in significant improvements to serum markers of liver fibrosis. *J Viral Hepat.* 2015;22:701e7.
96. Saez-Royuela F, Linares P, Cervera LA, Almohalla C, Jorquera F, Lorenzo S, et al. Evaluation of advanced fibrosis measured by transient elastography after hepatitis C virus protease inhibitor-based triple therapy. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2016;28:305-12.
97. Miyaki E, Imamura M, Hiraga N, Murakami E, Kawaoka T, Tsuge M et al. Daclatasvir and asunaprevir treatment improves liver function parameters and reduces liver fibrosis markers in chronic hepatitis C patients. *Hepatol Res.* 2016;46:758-64
98. Bernuth S, Yagmur E, Schuppan D, Sprinzl MF, Zimmermann A, Schad A, et al. Early changes in dynamic biomarkers of liver fibrosis in hepatitis C virus infected patients treated with sofosbuvir. *Dig Liver Dis.* 2016; 48:291-7.
99. Afdhal N, Everson G, Calleja JL, McCaughan G, Symonds WT, Denning J, et al. Sofosbuvir and ribavirin for the treatment of chronic HCV with cirrhosis and portal hypertension with and without decompensation: early virologic response and safety. *J Hepatol.* 2014;60:S28.
100. Flamm SL, Everson GT, Charlton M, Denning JM, Arterburn S, Brandt-Sarif T et al. Ledipasvir/sofosbuvir with ribavirin for the treatment of HCV in patients with decompensated cirrhosis: preliminary results of a prospective, multicenter study. *Hepatology.* 2014;60:320A.

101. Reig M, Marino Z, Perello C, Inarrairaegui M, Ribeiro A, Lens S, et al. Unexpected early tumor recurrence in patients with hepatitis C virus -related hepatocellular carcinoma undergoing interferon-free therapy: a note of caution. *J Hepatol.* 2016; 65:719-26.
102. Tsochatzis EA, Bosch J, Burroughs AK. Liver cirrhosis. *Lancet* 2014;383:1749-1761.
103. Saunders JB, Walters JRF, Davies P, Paton A. A 20-year prospective study of cirrhosis. *Brit Med J.* 1981;282:263-266.
104. Gines P, Quintero E, Arroyo V, Teres J, Bruguera M, Rimola A et al. Compensated cirrhosis. Natural history and prognostic factors. *Hepatology.* 1987;7:122-128.
105. Villanueva C, Albillos A, Jenesca J, Abraldes J, Calleca JL, Aracil C, et al. Development of hyperdynamic circulation and response to b-blockers in compensated cirrhosis with portal hypertension. *Hepatology.* 2016;63:197-206.
106. De Franchis R. Updating consensus in portal hypertension. Report of the Baveno III consensus workshop on definitions, methodology and therapeutic strategies in portal hypertension. *J Hepatol.* 2000;33:846-852.
107. Bosch J, Groszmann RJ, Shah VH. Evolution in the understanding of the pathophysiological basis of portal hypertension: How changes in paradigm are leading to successful new treatments. *J Hepatol.* 2015;62:S121-S130.
108. Merli M, Nicolini G, Angeloni S, Rinaldi V, De Santis A, Merkel C, et al. Incidence and natural history of small esophageal varices in cirrhotic patients. *J Hepatol.* 2003;38:266-272.
109. Zoli M, Merkel C, Magalotti D, Gueli C, Grimaldi M, Gatta A, et al. Natural history of cirrhotic patients with small esophageal varices: a prospective study. *Am J Gastroenterol.* 2000;95:503-508.

110. The North Italian Endoscopic Club for the study and treatment of esophageal varices. Prediction of the first variceal hemorrhage in patients with cirrhosis of the liver and esophageal varices. A prospective study. *N Engl J Med.* 1988;319:983-989.
111. Reverter E, Tandon P, Augustin S, Turon F, Casu S, Bastiampillai R, et al. A MELD-Based model to determine risk of mortality among patients with acute variceal bleeding. *Gastroenterology.* 2014;146:412-419.
112. D'Amico G, De Franchis R, Cooperative Study Group. Upper digestive bleeding in cirrhosis. Post-therapeutic outcome and prognostic indicators. *Hepatology.* 2003;38:599-612.
113. Gines P, Quintero E, Arroyo V, Teres J, Bruguera M, Rimola A, et al. Compensated cirrhosis: natural history and prognostic factors. *Hepatology.* 1987;7:122-128.
114. Schrier RW, Arroyo V, Bernardi M, Epstein M, Henriksen JH, Rodes J. Peripheral arterial vasodilation hypothesis: a proposal for the initiation of renal sodium and water retention in cirrhosis. *Hepatology.* 1988;8:1151-1157.
115. D'Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. *J Hepatol.* 2006;44:217-231.
116. Butterworth RF. Pathogenesis and treatment of portal-systemic encephalopathy: an update. *Dig Dis Sci.* 1992;37(3):321-327.
117. Ferraz, LR, Figueiredo LFP. Diagnóstico de encefalopatia hepática. *Rev Assoc Med Bras.* Apr/Jan 2004;50;2
118. Coelho FF, Perini MV, Kruger JAP, Fonseca GM, Araújo RFC, Makdissi FF. Tratamento da Hemorragia Digestiva Alta por Varizes Esofágicas: Conceitos Atuais. *ABCD Arq Bras Cir Dig.* 2014;27(2):138-144
119. Rosenberg WMC, Voelker M, Thiel R, et al. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology.* 2004;127:1704-13.

120. Jacqueline A, Valli P1, Kröger A, Bergamin I, Künzler P, Baserga 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 International*.2017; 37: 369-376
121. Seo K, Ki Kim S, Ryang Kim S, Ohtani A, Kobayashi M, Kato A et al. Comparison of Sofosbuvir Plus Ribavirin Treatment with Pegylated Interferon Plus Ribavirin Treatment for Chronic Hepatitis C Genotype 2. *Dig Dis*. 2017;35:541-547
122. Houot M, Ngo Y, Munteanu M, Marque S, Poynard T. Systematic review with meta-analysis: direct comparisons of biomarkers for the diagnosis of fibrosis in chronic hepatitis C and B. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016; 43:16-29.
123. Lima LM, Martins JR, Nader HB, Lacet CM, Balwani MC, Pinhal MA. Valor preditivo de marcadores séricos de fibrose hepática em pacientes portadores de hepatite crônica viral C. *J Bras Patol Med Lab*.2008; 44(n.3):185-191
124. Su-Mei Li, Guang-Xia Li, Dong-Mei Fu, Yu Wang, Li-Qun Dang. Liver fibrosis evaluation by ARFI and APRI in chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol*. July 28 2014; 20(28): 9528-9533
125. Fierbinteanu-Braticevici C, Andronescu D, Usvat R, Cretoiu D, Baicus C, Marinoschi G. Acoustic radiation force imaging sono elastography for non invasive staging of liver fibrosis. *World J Gastroenterol*. 2009; 15: 5525-5532 [PMID: 19938190]
126. European Association for Study of Liver; Asociacion Latinoamericana para el Estudio del Hígado. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *J Hepatol* 2015; 63: 237-264 [PMID: 25911335 DOI: 10.1016/j.jhep.2015.04.006]
127. Asrani SK, Talwalkar JA, Kamath PS, et al. Role of magnetic resonance elastography in compensated and decompensated liver disease. *J Hepatol*. 2014;60:934-939.

128. Singh S, Venkatesh SK, Wang Z, et al. Diagnostic performance of magnetic resonance elastography in staging liver fibrosis: a systematic review and meta-analysis of individual participant data. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2015;13:440-451.e6.
129. Castera L. Noninvasive methods to assess liver disease in patients with hepatitis B or C. *Gastroenterology.* 2012; 142:1293-1302. [PubMed: 22537436]
130. Stasi C, Milani S. Evolving strategies for liver fibrosis staging: Non-invasive assessment. *World J Gastroenterol.* 2017 January 14; 23(2): 191-196
131. Hong SH, Kim JE, Cho ML, Heo YJ, Choi JH, Choi JH, et al. Comparison of the Child-Turcotte-Pugh Classification and the Model for End-stage Liver Disease Score as Predictors of the Severity of the Systemic Inflammatory Response in Patients Undergoing Living-donor Liver Transplantation. *J Korean Med Sci.* 2011; 26(10):1333-8.
132. Charlton M, Everson GT, Flamm SL, Kumar P, Landis C, Brown RS Jr, et al. Ledipasvir and sofosbuvir plus ribavirin for treatment of HCV infection in patients with advanced liver disease. *Gastroenterology.* 2015;149:649-659.
133. Foster GR, Irving WL, Cheung MC, Walker AJ, Hudson BE, Verma S, et al. Impact of direct acting antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C and decompensated cirrhosis. *J Hepatol.* 2016;64:1224-1231.
134. Curry MP, O'Leary JG, Bzowej N, Muir AJ, Korenblat KM, Fenkel JM, et al. Sofosbuvir and velpatasvir for HCV in patients with decompensated cirrhosis. *N Engl J Med.* 2015;373:2618- 2628.
135. Aql BA, Pungpapong S, Leise M, Werner KT, Chervenak AE, Watt KD, et al. Multicenter experience using simeprevir and sofosbuvir with or without ribavirin to treat hepatitis C genotype 1 in patients with cirrhosis. *Hepatology.* 2015;62:1004-1012.
136. Carrillo CF, Lens S, Llop E, Pascasio JM, Crespo J, Arenas J et al. Treatment of Hepatitis C Virus Infection in Patients With Cirrhosis and Predictive Value of

Model for End-Stage Liver Disease: Analysis of Data From the Hepa-C Registry. *Hepatology*.2017; 65: 1810-1822

137. Di Bisceglie AM, Sterling RK, Chung RT, Everhart JE, Dienstag JL, Bonkovsky HL, et al. Serum alpha-fetoprotein levels in patients with advanced hepatitis C: results from the HALT-C Trial. *J Hepatol*. 2005;43:434-441. doi: 10.1016/j.jhep.2005.03.019.
138. El Kassas M, Elbaz T, Hafez E, Esmat G. Safety of direct antiviral agents in the management of hepatitis C. *Expert Opin Drug Saf*. 2016;15:1643-1652. doi: 10.1080/14740338.2017.1240781.
139. Feld JJ, Foster GR. Second generation direct-acting antivirals - Do we expect major improvements? *J Hepatol*. 2016; 65:S130-S142. doi: 10.1016/j.jhep.2016.07.007.
140. El Kassas M, Elbaz T, Hafez E, Esmat G. Safety of direct antiviral agents in the management of hepatitis C. *Expert Opin Drug Saf*. 2016;15:1643-1652. doi: 10.1080/14740338.2017.1240781.
141. Seo K, Ki Kim S, Ryang Kim S, Ohtani A, Kobayashi M, Kato A et al. Comparison of Sofosbuvir Plus Ribavirin Treatment with Pegylated Interferon Plus Ribavirin Treatment for Chronic Hepatitis C Genotype 2. *Dig Dis*.2017;35:541-547.
142. Yoshida T, Hanada T, Tokuhisa T et al. Activation of STAT3 by the hepatitis C virus core protein leads to cellular transformation. *J. Exp. Med*. 2002; 196: 641-53.
143. Yano H, Iemura A, Haramaki M et al. Interferon alfa receptor expression and growth inhibition by interferon alfa in human liver cancer cell lines. *Hepatology* 1999; 29: 1708-17
144. Nguyen K, Jimenez M, Moghadam N, Wu C, Farid A, Grotts J. Decrease of Alpha-fetoprotein in Patients with Cirrhosis Treated with Direct-acting Antivirals. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*.2017; 5:43-49.

145. Hearnshaw S, Thompson NP, McGill A. The epidemiology of hyperferritinaemia. *World J Gastroenterol*. 2006;12:5866-5869
146. Manousou P, Kalambokis G, Grillo F, et al. Serum ferritin is a discriminant marker for both fibrosis and inflammation in histologically proven non-alcoholic fatty liver disease patients. *Liver Int*. May 2011;31(5):730-9. doi: 10.1111/j.1478-3231.2011.02488.
147. Carvalho JR, Velosa J, Serejo F. Lipids, glucose and iron metabolic alterations in chronic hepatitis C after viral eradication - comparison of the new direct-acting antiviral agents with the old regimens. May 2018;20:1-7. doi: 10.1080/00365521.2018.1473486.
148. Yada N, Kudo M, Chung H, Hayaishi S, Takita M, Ueda T et al. PEG-IFN α /RBV Combination Therapy for Chronic Hepatitis C Patients Increases Serum Ferritin Level while It Improves Sustained Viral Response Rate. *Intervirology* 2010;53:60-65.
149. Ferrara F, Ventura P, Vegetti A, Guido M, Abbati G, Corradini E et al. Serum ferritin as a predictor of treatment outcome in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol*. 2009; 104: 605-616.
150. Ripoll C, Keitel F, Hollenbach M, Greinert R, Zipprich A. Serum Ferritin in Patients With Cirrhosis is Associated With Markers of Liver Insufficiency and Circulatory Dysfunction, but Not of Portal Hypertension. Oct 2015;49(9):784-9. doi: 10.1097/MCG.000000000000283.
151. Weismuller TJ, Kirchner GI, Scherer MN, et al. Serum ferritin concentration and transferrin saturation before liver transplantation predict decreased long-term recipient survival. *Hepatology*. 2011;54:2114-2124.
152. Maiwall R, Kumar S, Chaudhary AK, et al. Serum ferritin predicts early mortality in patients with decompensated cirrhosis. *J Hepatol*. 2014;61:43-50.

153. P. Andre F, Komurian-Pradel S, Deforges M, Perret J.L, Berland M, Sodoyer S et al. Characterization of low- and very-low-density hepatitis C virus RNA-containing particles. *J. Virol.*2002; 76:6919-6928.
154. Andrade VG, Yamashiro FS, Oliveira CV, Kurozawa LL, Moreira A, SILVA GF. Increase of lipids during HCV treatment: virus action or medication? *Arq Gastroenterol.*2018; v. 55 nº 2.
155. Daisuke Endo, Kenichi Satoh, Noritomo Shimada, Atsushi Hokari, Yoshio Aizawa. Impact of interferon-free antiviral therapy on lipid profiles in patients with chronic hepatitis C genotype 1b. *World J Gastroenterol.* April 7 2017;23(13): 2355-2364.
156. Tsutsumi T, Suzuki T, Shimoike T et al. Interaction of hepatitis C virus core protein with retinoid X receptor alpha modulates its transcriptional activity. *Hepatology* 2002; 35: 937-46.
157. Dharancy S, Malapel M, Perlemuter G et al. Impaired expression of the peroxisome proliferator-activated receptor alpha during hepatitis C virus infection. *Gastroenterology* 2005; 128: 334-42.
158. de Gottardi A, Pazienza V, Pugnale P et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and -gamma mRNA levels are reduced in chronic hepatitis C with steatosis and genotype 3 infection. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2006; 23: 107-14.
159. Perlemuter G, Sabile A, Letteron P et al. Hepatitis C virus core protein inhibits microsomal triglyceride transfer protein activity and very low density lipoprotein secretion: a model of viral-related steatosis. *FASEB J.* 2002; 16: 185-94. 159.
160. Das GC, Hollinger FB. Molecular pathways for glucose homeostasis, insulin signaling and autophagy in hepatitis C virus induced insulin resistance in a cellular model. *Virology.* 2012;434(1):5-17.
161. Knobler H, Malnick S. Hepatitis C and insulin action: an intimate relationship. *World J Hepatol.* 2016;8(2):131-8.

162. Allison ME, Wreghitt T, Palmer CR, et al. Evidence for a link between hepatitis C virus infection and diabetes mellitus in a cirrhotic population. *J Hepatol* 1994; 21: 1135-1139.
163. Koren S, Fantus IG. Inhibition of the protein tyrosine phosphatase PTP1B: potential therapy for obesity, insulin resistance and type-2 diabetes mellitus. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2007; 21: 621-640.
164. Miyamoto H, Moriishi K, Moriya K, et al. Involvement of the PA28gamma-dependent pathway in insulin resistance induced by hepatitis C virus core protein. *J Virol* 2007; 81: 1727-1735.
165. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus 2003. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 26(Suppl 1):S5-S20.
166. Aghemo A, Prati GM, Rumi MG, Soffredini R, D'Ambrosio R, Orsi E, et al. Sustained virological response prevents the development of insulin resistance in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2012;56:1681e7.
167. Konrad T, Zeuzem S, Vicini P, Toffolo G, Briem D, Lormann J, Herrmann G, Berger A, Kusterer K, Teuber G, Cobelli C, Usadel KH. Evaluation of factors controlling glucose tolerance in patients with HCV infection before and after 4 months therapy with interferon-alpha. *Eur J Clin Invest* 2000; 30: 111-121 [PMID: 10651835 DOI: 10.1046/j.1365-2362.2000.00608.x].
168. Adinolfi LE, Restivo L, Zampino R, Lonardo A, Loria P. Metabolic alterations and chronic hepatitis C: treatment strategies. *Expert Opin. Pharmacother.* 2011; 12: 2215-34.
169. Konrad T, Zeuzem S, Vicini P, Toffolo G, Briem D, Lormann J, Herrmann G, Berger A, Kusterer K, Teuber G, Cobelli C, Usadel KH. Evaluation of factors controlling glucose tolerance in patients with HCV infection before and after 4 months therapy with interferon-alpha. *Eur J Clin Invest* 2000; 30: 111-121 [PMID: 10651835 DOI: 10.1046/j.1365-2362.2000.00608.x]
170. Durante-Mangoni E, Zampino R, Marrone A et al. Hepatic steatosis and insulin

resistance are associated with serum imbalance of adiponectin/tumour necrosis factor-alpha in chronic hepatitis C patients. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2006; 24: 1349-57.

171. Perticone M, Maio R, Tassone EJ et al. Insulin-resistance HCV infection-related affects vascular stiffness in normotensives. *Atherosclerosis* 2015; 238: 108-12.
172. Vidali M, Tripodi MF, Ivaldi A et al. Interplay between oxidative stress and hepatic steatosis in the progression of chronic hepatitis C. *J. Hepatol.* 2008; 48: 399-406.
173. Hsu YC, Lin JT, Ho HJ et al. Antiviral treatment for hepatitis C virus infection is associated with improved renal and cardiovascular outcomes in diabetic patients. *Hepatology* 2014; 59: 1293-302.
174. Berenguer J, Rodríguez E, Miralles P et al. GESIDA HIV/HCV Cohort Study Group. Sustained virological response to interferon plus ribavirin reduces non-liver-related mortality in patients coinfecting with HIV and Hepatitis C virus. *Clin. Infect. Dis.* 2012; 55: 728-36
175. Gastaldi G, Goossens Nb, Clement S, Negro F. Current level of evidence on causal association between hepatitis C virus and type 2 diabetes: A review. *J Adv Res.* 2017; 8, 149-159
176. Eslam M, Kawaguchi T, Del Campo JA, Sata M, Khattab MAE, Romero-Gomez M. Use of HOMA-IR in hepatitis C. *Journal of Viral Hepatitis.* 2011 ; 18 : 675-684
177. Grasso A, Malfatti F, Leo P, Martines H, Fabris P, Toscanini F et al. Insulin resistance predicts rapid virological response in non-diabetic, non-cirrhotic genotype 1 HCV patients treated with peginterferon alpha-2b plus ribavirin. *J Hepatol.* 2009 ; 51 : 984-90
178. Romero-Gomez M, Vilorio MDM, Andrade RJ, Salmerón J, Diago M, Fernández-Rodríguez CM et al. Insulin Resistance Impairs Sustained Response Rate to

Peginterferon Plus Ribavirin in Chronic Hepatitis C Patients. *Gastroenterology*. 2005 ; 128 : 636-641

179. Moucari R, Asselah T, Cazals-Hatem D, Voitot H, Boyer N, Ripault MP, et al. Insulin resistance in chronic hepatitis C: association with genotypes 1 and 4, serum HCV RNA level, and liver fibrosis. *Gastroenterology* 2008; 134:416-423[PMID: 18164296 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.11.010]
180. Pais R, Rusuc E, Zilisteanu D, Circiumaru A, Micu L, Voiculescu M et al. Prevalence of steatosis and insulin resistance in patients with chronic hepatitis B compared with chronic hepatitis C and non-alcoholic fatty liver disease. R. Pais et al. / *European Journal of Internal Medicine*. 2015; 26 : 30-36
181. Geloneze B, Vasques ACJ, Stabe CFC, Pareja JC, Rosado LEFPL, Queiroz EC. et al. HOMA1-IR and HOMA2-IR indexes in identifying insulin resistance and metabolic syndrome - Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS). *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2009; 53/2