

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
Dissertação será disponibilizado
somente a partir de 11/11/2022.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Aline Márcia Marques Braz

**Caracterização Imunocelular em Coorte de
Pacientes Cirróticos com Resposta Viroológica
Sustentada Obtida com Drogas de Ação Direta para
Hepatite C Crônica.**

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

Orientador: Prof. Dr. Giovanni Faria Silva
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Márjorie de Assis Golim

**Botucatu
(2020)**

Aline Márcia Marques Braz

Caracterização Imunocelular em Coorte de
Pacientes Cirróticos com Resposta Viroológica
Sustentada Obtida com Drogas de Ação Direta para
Hepatite C Crônica.

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

Orientador: Prof. Dr. Giovanni Faria Silva
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Márcjorie de Assis Golim

Botucatu
(2020)

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Braz, Aline Márcia Marques.

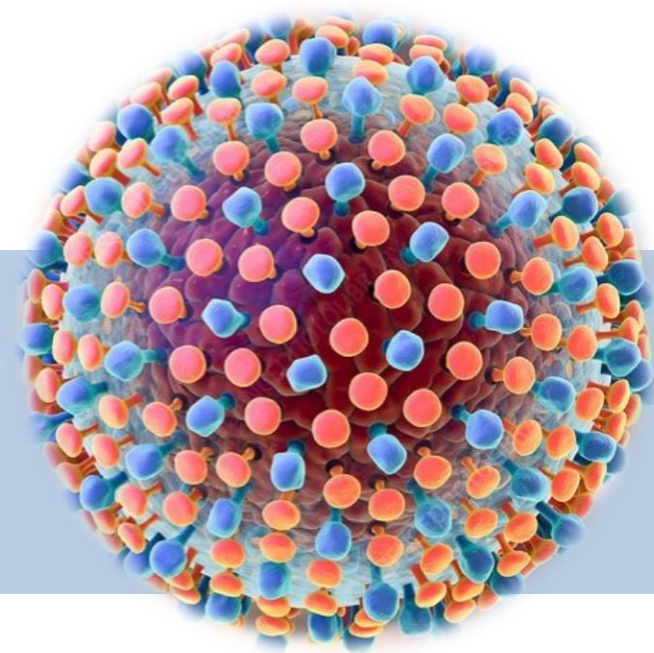
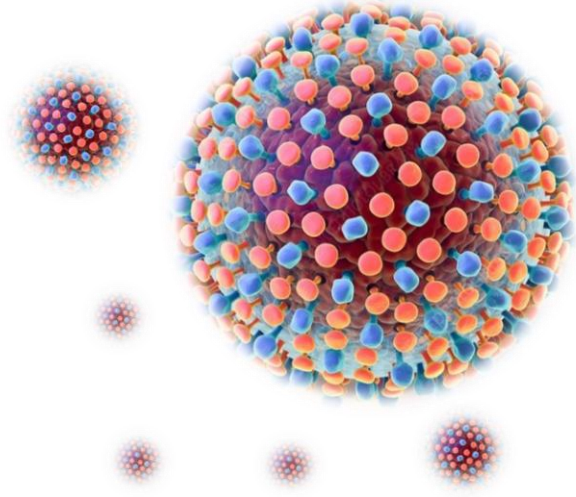
Caracterização imunocelular em coorte de pacientes cirróticos com resposta virológica sustentada obtida com drogas de ação direta para hepatite C crônica / Aline Márcia Marques Braz. - Botucatu, 2020

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Giovanni Faria Silva
Coorientador: Márjorie de Assis Golim
Capes: 40101002

1. Fígado - Cirrose. 2. Virologia. 3. Técnicas de imagem por elasticidade. 4. Hepatite C.

Palavras-chave: Cirrose hepática; Elastografia; Hepatite C.



DEDICATÓRIA E AGRADECIMENTOS

Dedico a concretização deste sonho,

Ao meu esposo Everton,

Pela compreensão,
companheirismo em todos os momentos,
incentivo constante e amor incondicional.

Aos meus filhos Ana Clara e Noah,

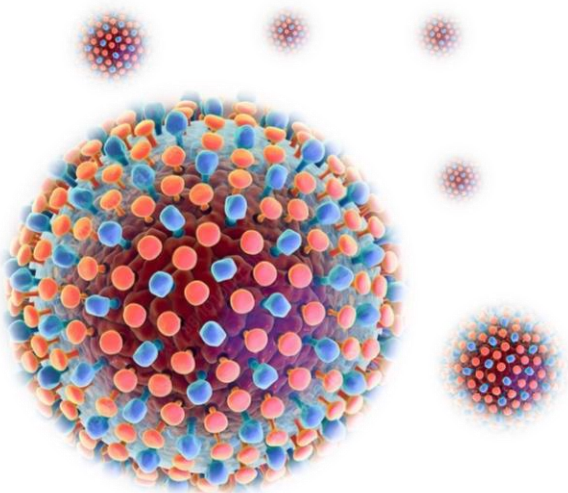
Pela compreensão nos momentos de ausência,
pela força e pelo amor infinito
que me motivaram em cada segundo desta caminhada.

Aos meus pais Fátima e Edvaldo,

Pelos princípios e valores que me ensinaram,
pela formação e oportunidades que me proporcionaram,
e pelo amor incondicional que me dedicaram.

A minha irmã Lilian,

Pela amizade sincera,
companheirismo e amor.



Meus sinceros agradecimentos,

A Deus, todo poderoso, pela proteção e todas as bênçãos a mim concedidas.

Aos pacientes que fizeram parte deste estudo: vocês são a principal motivação de perseverar em fazer ciência. Obrigada pela ajuda, sem vocês nada disso seria possível!

Ao meu orientador Prof. Dr. Giovanni Faria Silva, pela confiança, oportunidades, ensinamentos e todo tempo dedicado ao meu crescimento profissional.

À minha querida coorientadora Prof.^a Dr.^a Márjorie de Assis Golim por acreditar no meu potencial e me conduzir desde a iniciação científica até aqui. Obrigada pelas inúmeras oportunidades proporcionadas, pela disponibilidade irrestrita, por todos os ensinamentos a mim dedicados tanto na vida profissional como pessoal.

Ao Prof. Dr. Paulo Eduardo de Abreu Machado (*in memoriam*), por todo ensinamento, tempo e paciência a mim dedicados. Profissional exemplo de dedicação e competência, ser humano sinônimo de humildade, humanidade e caráter.

Ao Laboratório de Citometria de Fluxo por me abrir as portas e me acolher de maneira irrestrita. Igualmente aos meus companheiros de laboratório: Léia, Rodrigo, Francielle, Lia, Mariana, Larissa e Guilherme, por todo companheirismo e paciência.

À equipe do Ambulatório de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas de Botucatu: Mari Nilce, Vanessa Gutierrez, Flávia Chiacchio, Vanessa Nogueira e Vera Escábia, por toda ajuda no recrutamento dos pacientes.

À equipe da clínica Vitae pela colaboração na realização dos exames de elastografia.

À minha parceira de doutorado Fernanda Winckler por toda ajuda, paciência e companheirismo. Sem você este trabalho não seria possível.

Ao professor Rafael Plana Simões pela preciosa colaboração neste trabalho.

Ao Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Botucatu pela oportunidade à minha formação.

Aos funcionários da sessão de pós-graduação da FMB, pela prestatividade e competência.

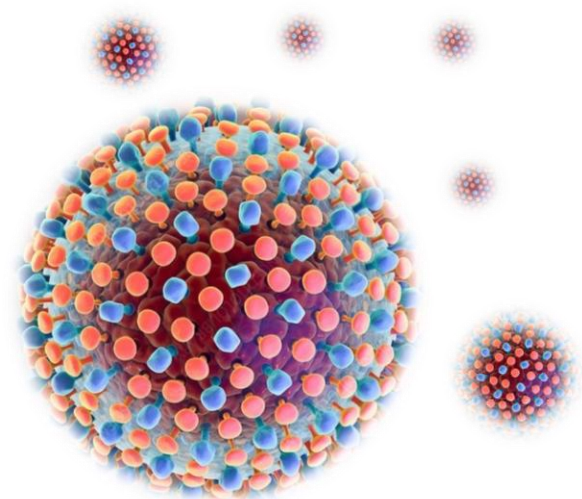
Ao Hospital das Clínicas pela oportunidade de recrutamento dos pacientes inseridos neste trabalho.

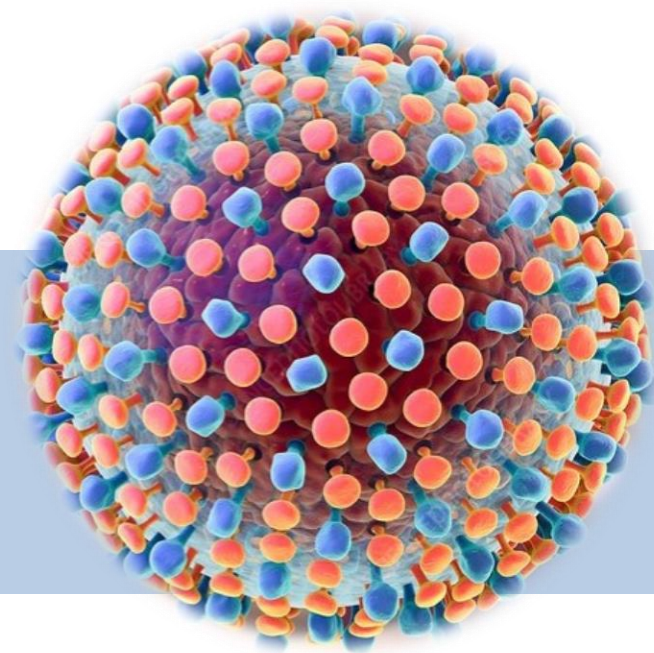
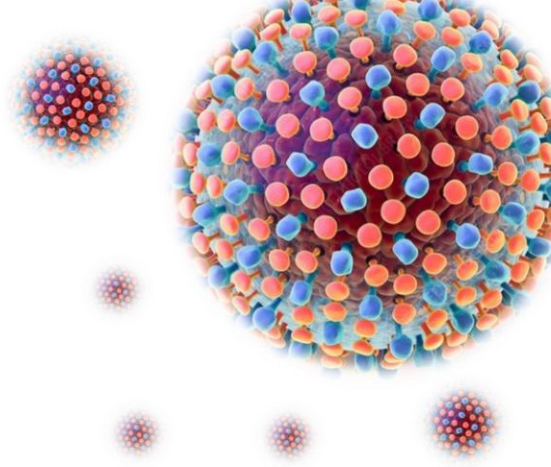
À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), que financiou este projeto por meio do processo 2016/25416-3.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), que fomentou minha bolsa de estudos durante parte do meu doutorado para que eu pudesse me dedicar exclusivamente à condução deste projeto de pesquisa.

Aos pesquisadores com quem trabalhei durante o período do meu doutorado, obrigada pela confiança e oportunidade de adquirir novos conhecimentos.

Aos meus familiares por toda compreensão, amor e motivação.





ΕΠΙΓΡΑΦΕ

É magnífico ver a interface entre a ciência e a arte.

Já sabiamente dizia o poeta Hesíodo nos séculos VIII-VII a.C.:

“...E prendeu com frágeis peias Prometeu astucioso, cadeias dolorosas passadas ao meio duma coluna, e sobre ele incitou uma águia de longas asas, ela comia o fígado imortal, ele crescia à noite todo igual o que comera de dia a ave de longas asas...”

Prometeu através de Ésquilo (452 e 459 a.C.) assim justificava seu castigo:

“...Graças a mim, os homens não mais desejam a morte... Dei-lhes uma esperança infinita no futuro... Consegui que eles participem do fogo celeste... E desse mestre aprenderão muitas ciências e artes...”

Que a ciência seja o fogo que arde em nossas vidas para que sejamos semeadores do conhecimento;

Que possamos aprender a arte de ensinar, e reconhecer a necessidade de aprender constantemente;

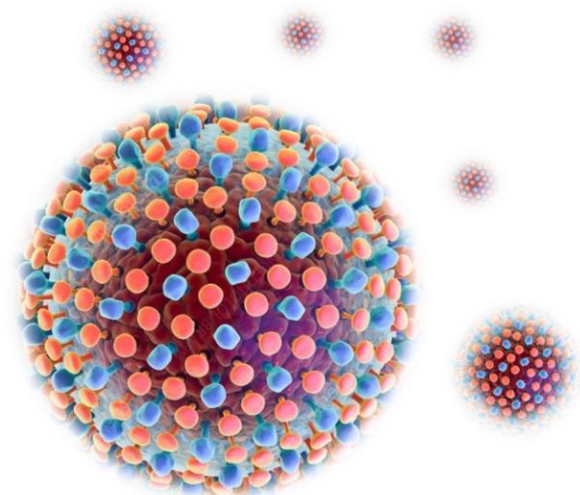
Que a águia que nos foi imposta ao longo da jornada, não nos impeça de renovarmos as forças e a esperança na caminhada;

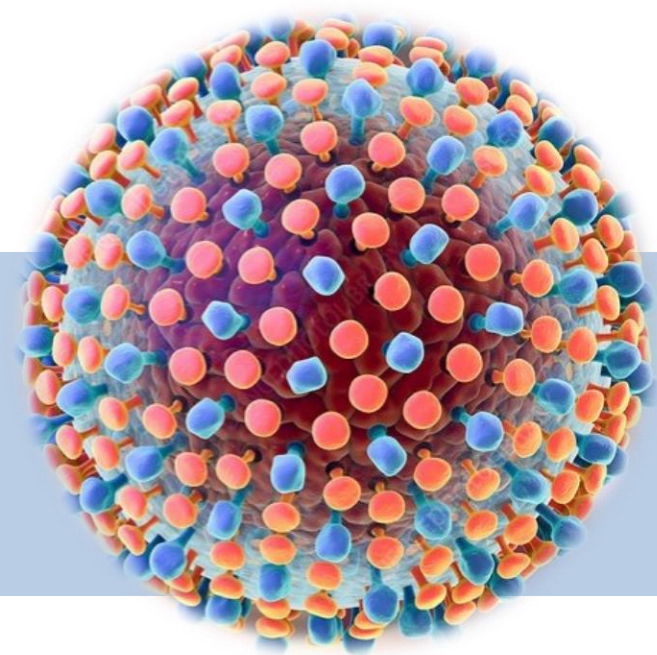
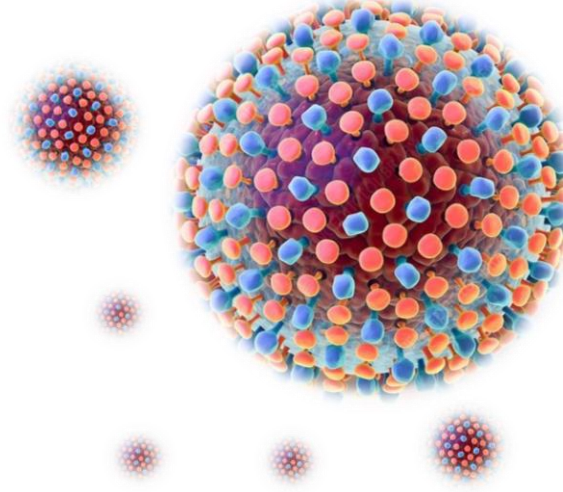
Que a humanidade seja a nossa motivação diária e o amor ao próximo nosso combustível inesgotável;

Para que assim como Prometeu, utilizemos o dom que Deus nos deu:

Para que um dia possamos explicar, aquilo que nossos olhos por si só ainda não podem contemplar.

Aline Braz





PREFÁCIO

Tanto nas ciências como nas artes, não se trata mais de simples “escolas” ou de “movimentos”, em que alguns cientistas ou artistas, compartilhando um mesmo paradigma, continuavam a produzir cada um por conta própria. Trata-se, ao contrário, de verdadeiras criações coletivas, como as telas pintadas a seis mãos por Andy Warhol, Basquiat e Francesco Clemente, nas quais seria inútil distinguir as contribuições pessoais, dado que a grandeza das obras consiste exatamente no conjunto.

¹Domenico De Masi (2005).

Vivenciamos aqui a concretização de um trabalho multiprofissional. A convergência de olhares, de experiências, opiniões e contribuições, trazendo a aproximação de diferentes universos, entrelaçando-os em prol da saúde, da ciência, do benefício ao paciente.

A trajetória vivenciada pela aluna, foi galgada na dedicação profícua, abraçando os desafios com determinação, demonstrando vocação científica e criativa, conduzida pelo fascínio em busca do conhecimento. Estas características possibilitaram uma atuação protagonista, desempenhando a articulação necessária à execução de um trabalho coletivo.

A realidade pandêmica que atualmente vivenciamos torna evidente que uma das características fundamentais na formação profissional, especialmente no campo científico, é a capacidade de trabalhar em equipe. O mundo precisou unir-se para tentar mitigar os estragos impostos pelo novo vírus. As maiores contribuições têm emergido da união, das criações conjuntas.

Que esta seja a mola propulsora que venha impulsionar os jovens que se propõem a experimentar a beleza do universo científico. Que aprimorem sempre a interação, que vivenciem o trabalho conjunto, que saibam que quando nos esforçamos juntos conseguimos extrair o melhor de cada um, visando um bem maior. Isso permite inovação, crescimento tecnológico, produção científica e retorno à sociedade. É disso que nosso novo mundo precisa!

Marjorie de Assis Golim

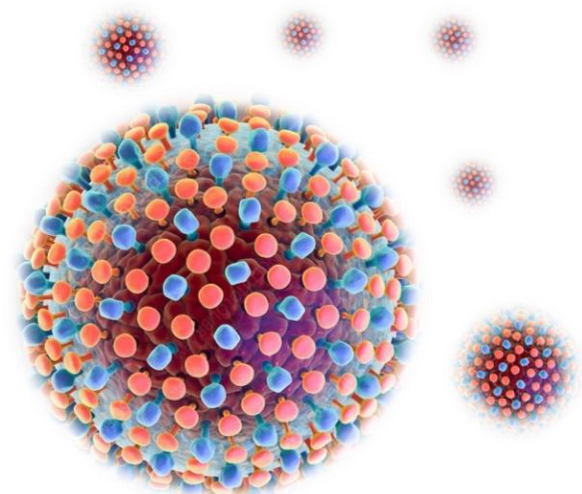
BRAZ, A. M. M. **Caracterização imunocelular em coorte de pacientes cirróticos com resposta virológica sustentada obtida com drogas de ação direta para hepatite C crônica.** 2020. 119 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2020.

RESUMO

Pacientes cirróticos com hepatite C crônica, mesmo após resposta virológica sustentada (RVS), devem ser monitorados para avaliação da função hepática e rastreamento do carcinoma hepatocelular (CHC) a cada seis meses por toda a vida. Após o tratamento e depuração viral, inicia-se a fase de resolução da inflamação e regressão da fibrose. No entanto, avaliações por elastografia demonstram que 30 a 40% dos pacientes não apresentam diminuição da rigidez hepática após RVS. Este foi um estudo de *coorte* em pacientes cirróticos para identificar fatores imunológicos envolvidos na regressão da rigidez hepática na hepatite C crônica e caracterizar possíveis biomarcadores séricos de valor prognóstico. O universo amostral foi composto por 31 pacientes cirróticos que realizaram imunofenotipagem leucocitária, quantificação de citocinas/quimiocinas e inibidores de metaloproteinase (TIMP 1, 2, 3) no pré-tratamento (M1) e na avaliação da RVS (M2) (análise retrospectiva). Os critérios de inclusão foram: infecção pelo genótipo 1 do VHC, diagnóstico de cirrose, ausência de comorbidades de origem infecciosa, inflamatória ou neoplásica, não uso de imunossupressor e confirmação de RVS em M2. Os critérios de exclusão foram: transplante de fígado e/ou desenvolvimento de nódulos ou CHC durante o período de seguimento, ausência de exame de elastografia em M1 ou M3 (24 meses após RVS), resultado de elastografia hepática incompatível com cirrose e perda de seguimento. Os 16 pacientes incluídos foram novamente avaliados por imunofenotipagem, análises multiplex e elastografia 24 meses após RVS (M3) e classificados em regressores (R) e não-regressores (NR) (diminuição $\geq 25\%$ de rigidez) (análise prospectiva). Os resultados da curva ROC, aprendizado de máquina (ML) e análise discriminante linear mostraram que a quantificação absoluta dos linfócitos TCD4 + foi o biomarcador mais importante para a predição da regressão (AUC = 0,90). Os pacientes NR apresentaram níveis de rigidez inferiores a R desde a quantificação basal (M1), enquanto as células NK aumentaram nos pacientes NR em M1 e M2.

Portanto, conclui-se que há diferença no perfil das células imunes circulantes em pacientes com regressão e não regressão da rigidez hepática, permitindo, assim, o desenvolvimento de um modelo preditivo de regressão da rigidez hepática após a RVS, devendo ser validado em número maior de pacientes prospectivamente.

Palavras-chave: cirrose hepática; elastografia; Hepatite C.



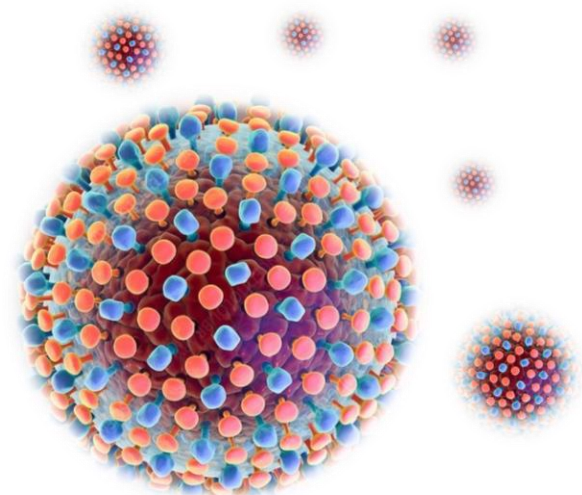
BRAZ, A. M. M. **Immunocellular characterization in a cohort of cirrhotic patients with sustained virological response obtained with direct-acting drugs for chronic hepatitis C.** 2020. 119 p. Thesis (Doctorate) -Botucatu Medical School, São Paulo State University, Botucatu, 2020.

ABSTRACT

Cirrhotic patients with chronic hepatitis C, even after sustained virological response (SVR), should be monitored for the evaluation of liver function and screening of hepatocellular carcinoma (HCC) every six months for life. After treatment and viral clearance, the stage of inflammatory resolution and regression of fibrosis should happen. However, liver examinations by elastography show that 30 to 40% of patients do not exhibit a decrease in liver stiffness. This work was a cohort study in cirrhotic patients whose purpose was to identify immunological factors involved in the regression of liver stiffness in chronic hepatitis C, and characterize possible prognostic value serum biomarkers. The sample universe consisted of 31 cirrhotic patients who underwent leukocyte immunophenotyping, quantification of cytokines / chemokines and metalloproteinase inhibitors (TIMP 1, 2, 3) in the pre-treatment (M1) and in the evaluation of SVR (M2) (retrospective analysis). Inclusion criteria were HCV genotype 1 infection, diagnosis of cirrhosis, absence of comorbidities of infectious, inflammatory or neoplastic origin, non-use of immunosuppressant and confirmation of SVR in M2. Exclusion criteria were: liver transplantation and / or development of nodules or HCC during the follow-up period, absence of elastography examination in M1 or M3 (24 months after SVR), result of liver elastography incompatible with cirrhosis and loss of follow-up. The 16 patients included were again evaluated by immunophenotyping, multiplex analysis and elastography 24 months after SVR (M3) and classified into regressors (R) and non-regressors (NR) (decrease $\geq 25\%$ stiffness) (prospective analysis). The results from ROC curve, machine learning (ML) and linear discriminant analysis showed that the absolute quantification of TCD4+ lymphocytes is the most important biomarkers for the prediction of the regression (AUC= 0,90). NR patients had levels less than R of stiffness since baseline quantification (M1), whereas NK cells were increased in NR patients at M1 and M2. Therefore, it was concluded that there is a difference in the profile of circulating immune cells in patients with regression and non-regression of liver stiffness, thus allowing the development of a predictive model

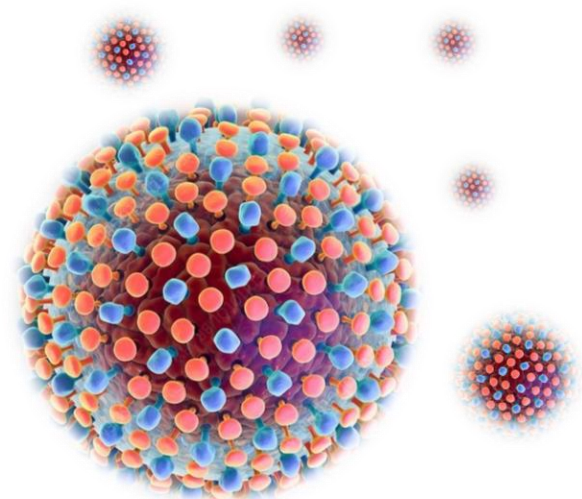
of regression of liver stiffness after SVR, and should be validated in greater numbers of patients prospectively.

Keywords: liver cirrhosis; elastography; Hepatitis C.



Lista de Ilustrações

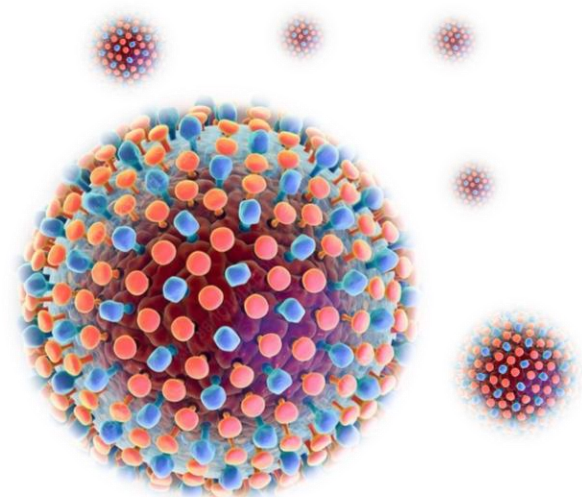
Figura 1 (E-book) - Progressão da fibrose na hepatite C crônica	25
Figura 2 (E-book) - Fatores envolvidos na fibrogênese hepática	29
Figura 3 (E-book) - Classificação de cirrose de Laennec—“ <i>Point of no return</i> ”	59
Figura 1 (Artigo I) - Percentage of reduction in hepatic stiffness with respect to M1	101
Figura 2 (Artigo I) - Absolute CD4 values in the different groups and moments	102
Figura 3 (Artigo I) - Decision tree (AUC = 100%).....	103
Figura 4 (Artigo I) - Discriminant function (model) containing the combination of absolute TCD4 lymphocyte values and total NK.....	103
Figura 5 (Artigo I) - ROC curve of the discriminant function combining the absolute CD4 and total NK, for M1 and/or M2.....	104
Figura 6 (Artigo I) - Total NK cell values in the different groups and moments.....	105



Lista de Tabelas

Tabela 1 (E-book) - Sensibilidade e especificidade de testes não-invasivos bioquímicos para predição de cirrose48

Tabela 1 (Artigo I) - Demographic characterization of the samples 100



Lista de Abreviaturas

AADs: Antivirais de Ação Direta

ALT: Alanina Aminotransferase

APRI: Índice da Razão de AST/Plaquetas

ARFI: *Acoustic Radiation Force Impulse*

AUC: *Area Under the ROC Curve*

CEH: Células Estreladas Hepáticas

CHC: Carcinoma Hepatocelular

DAMPs: Padrões Moleculares Associados ao Perigo

EROs: Espécies Reativas de Oxigênio

FIB: 4: *Fibrosis-4*

Gama-GT: Gama Glutamiltransaminase

HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana

IFN: Interferon

kPa: *Kilopascal*

LDA: *Linear Discriminant Analysis*

ML: *Machine Learning*

NK: *Natural killer*

NLRs: Receptores de Ligação a Nucleotídeos contendo domínio com sequência de resíduos do aminoácido leucina

NR: Non-Regressors (não-regressores)

OMS: Organização Mundial da Saúde

PAMPs: Padrões Moleculares Associados a Patógenos

PCDT: Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas

PRRs: Receptores de Reconhecimento Padrão

pSWE: *Point-Shear Wave*

R: *Regressors (Regressores)*

RVS: *Resposta Viroológica Sustentada*

TE: *Transient Elastography*

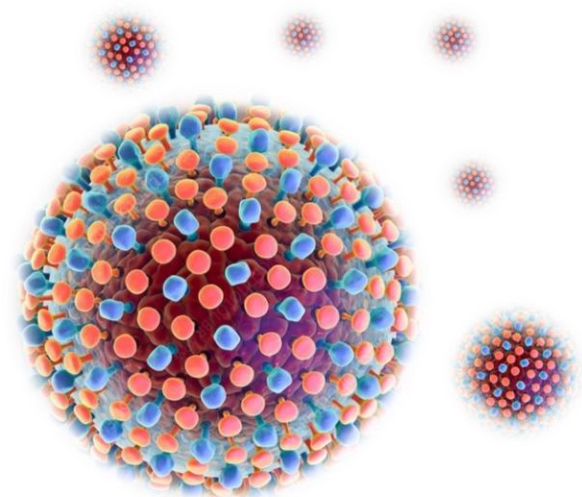
TGF- β : *Fator Transformador do Crescimento- β*

TLRs: *Toll-Like Receptors*

TNF: *Fator de Necrose Tumoral*

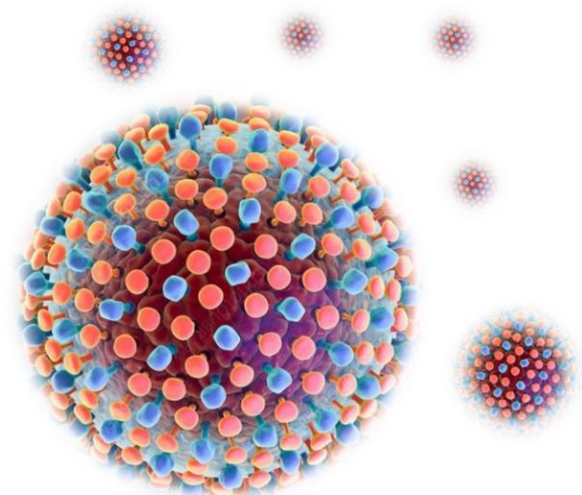
US: *Ultrassonografia*

VHC: *Vírus da Hepatite C*



SUMÁRIO

E-book: Hepatite C crônica, inflamação e fibrose	20
Artigo I: Inflammation Response and Liver Stiffness: Predictive model of regression of hepatic stiffness after sustained virological response in cirrhotics patients with chronic hepatitis C	90
Apêndice A: Termo de Consentimento Livre e esclarecido – Pacientes VHC+ – Estudo retro-prospectivo.....	115
Anexo A: Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa.....	117



- 418 3. Knop V, Hoppe D, Welzel T, Vermehren J, Herrmann E, Vermehren A, et al.
419 Regression of fibrosis and portal hypertension in HCV-associated cirrhosis and
420 sustained virologic response after interferon-free antiviral therapy. *J Viral Hepat.*
421 2016;23: 994–1002. doi:10.1111/jvh.12578
- 422 4. Baskic D, Vukovic V, Popovic S, Jovanovic D, Mitrovic S, Djurdjevic P, et al.
423 Correction: Chronic hepatitis C: Conspectus of immunological events in the course of
424 fibrosis evolution (PLoS ONE (2019)14:7
425 (e0219508)doi:10.1371/journal.pone.0219508). *PLoS One.* 2019;14: 1–16.
426 doi:10.1371/journal.pone.0221142
- 427 5. Irshad M, Gupta P, Irshad K. Immunopathogenesis of Liver Injury during Hepatitis C
428 Virus Infection. *Viral Immunol.* 2019;32: 112–120. doi:10.1089/vim.2018.0124
- 429 6. Grotto RMT, Santos FM, Picelli N, Silva GF, Ferrasi AC, Sarnighausen VCR, et al.
430 HPA-1a/1b could be considered a molecular predictor of poor prognosis in chronic
431 hepatitis C. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2019;52: 0–2. doi:10.1590/0037-8682-0427-2017
- 432 7. Saha B, Szabo G. Innate immune cell networking in hepatitis C virus infection. *J*
433 *Leukoc Biol.* 2014;96: 757–766. doi:10.1189/jlb.4mr0314-141r
- 434 8. Patra T, Ray R, Ray R. Strategies to Circumvent Host Innate Immune Response by
435 Hepatitis C Virus. *Cells.* 2019;8: 274. doi:10.3390/cells8030274
- 436 9. Schuppan D, Kim YO. Review series: Evolving therapies for liver fibrosis. *J Clin*
437 *Invest.* 2013;123: 1887–1901. doi:10.1172/JCI66028.Fibrosis
- 438 10. Alhtheel A, Albarrag A, Shakoor Z, Alswat K, Abdo A, Al-Hamoudi W. Assessment
439 of proinflammatory cytokines in sera of patients with hepatitis C virus infection before
440 and after anti-viral therapy. *J Infect Dev Ctries.* 2016;10: 1093–1098.
441 doi:10.3855/jidc.7595
- 442 11. Campana L, Iredale J. Regression of Liver Fibrosis. *Semin Liver Dis.* 2017;37: 001–
443 010. doi:10.1055/s-0036-1597816
- 444 12. Aydin MM, Akcali KC. Liver fibrosis. *Turkish J Gastroenterol.* 2018;29: 14–21.
445 doi:10.5152/tjg.2018.17330
- 446 13. Castera L. Invasive and non-invasive methods for the assessment of fibrosis and
447 disease progression in chronic liver disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.*
448 2011;25: 291–303. doi:10.1016/j.bpg.2011.02.003
- 449 14. Patel K, Remlinger KS, Walker TG, Leitner P, Lucas JE, Gardner SD, et al. Multiplex
450 Protein Analysis to Determine Fibrosis Stage and Progression in Patients With Chronic

- 451 Hepatitis C. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2014;12: 2113-2120.e3.
452 doi:10.1016/j.cgh.2014.04.037
- 453 15. Fernandes FF, Piedade J, Guimaraes L, Nunes EP, Chaves U, Goldenzon R V., et al.
454 Effectiveness of direct-acting agents for hepatitis C and liver stiffness changing after
455 sustained virological response. *J Gastroenterol Hepatol.* 2019;34: 2187–2195.
456 doi:10.1111/jgh.14707
- 457 16. Dolmazashvili E, Abutidze A, Chkhartishvili N, Karchava M, Sharvadze L,
458 Tsertsvadze T. Regression of liver fibrosis over a 24-week period after completing
459 direct-acting antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C receiving care within
460 the national hepatitis C elimination program in Georgia: Results of hepatology clinic
461 HEPA exper. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2017;29: 1223–1230.
462 doi:10.1097/MEG.0000000000000964
- 463 17. Srinivasa Babu A, Wells ML, Teytelboym OM, Mackey JE, Miller FH, Yeh BM, et al.
464 Elastography in Chronic Liver Disease: Modalities, Techniques, Limitations, and
465 Future Directions. *RadioGraphics.* 2016;36: 1987–2006. doi:10.1148/rg.2016160042
- 466 18. Ferraioli G, Tinelli C, Lissandrin R, Zicchetti M, Bello BD, Filice G, et al. Point shear
467 wave elastography method for assessing liver stiffness. *World J Gastroenterol.*
468 2014;20: 4787–4796. doi:10.3748/wjg.v20.i16.4787
- 469 19. Iredale JP, Bataller R. Identifying molecular factors that contribute to resolution of
470 liver fibrosis. *Gastroenterology.* 2014;146: 1160–1164.
471 doi:10.1053/j.gastro.2014.03.019
- 472 20. Terai S, Tsuchiya A. Status of and candidates for cell therapy in liver cirrhosis:
473 overcoming the “point of no return” in advanced liver cirrhosis. *J Gastroenterol.*
474 2017;52: 129–140. doi:10.1007/s00535-016-1258-1
- 475 21. Curry MP, O’Leary JG, Bzowej N, Muir AJ, Korenblat KM, Fenkel JM, et al.
476 Sofosbuvir and velpatasvir for HCV in patients with decompensated cirrhosis. *N Engl J*
477 *Med.* 2015;373: 2618–2628. doi:10.1056/NEJMoa1512614
- 478 22. Silva GF, de ANDRADE VG, Moreira A. Waiting DAAs list mortality impact in HCV
479 cirrhotic patients. *Arq Gastroenterol.* 2018;55: 343–345. doi:10.1590/s0004-
480 2803.201800000-76
- 481 23. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C.
482 *Hepatology.* 1996;24: 289–293. doi:10.1053/jhep.1996.v24.pm0008690394
- 483 24. Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of

- 484 Hepatitis C 2018. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J*
485 *Hepatol.* 2018;69: 461–511. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.026
- 486 25. Singh S, Facciorusso A, Loomba R, Falck-Ytter YT. Magnitude and Kinetics of
487 Decrease in Liver Stiffness After Antiviral Therapy in Patients With Chronic Hepatitis
488 C: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2018;16: 27-
489 38.e4. doi:10.1016/j.cgh.2017.04.038
- 490 26. Robin X, Turck N, Hainard A, Tiberti N, Lisacek F, Sanchez J, et al. pROC : an open-
491 source package for R and S + to analyze and compare ROC curves. *BMC*
492 *Bioinformatics.* 2011;12: 77. doi:10.1186/1471-2105-12-77
- 493 27. Witten IH, Frank E, Hall MA, Pal CJ. *Data Mining: Practical Machine Learning Tools*
494 *and Techniques.* Fourth. Kaufmann M, editor. Elsevier; 2017. doi:10.1016/C2015-0-
495 02071-8
- 496 28. Chang J. Collapsed Gibbs Sampling Methods for Topic Models. In: *RDocumentation.*
497 *lda Package* [Internet]. 2015 [cited 2 Oct 2020]. Available:
498 <https://www.rdocumentation.org/packages/lda/versions/1.4.2>
- 499 29. Pan JJ, Bao F, Du E, Skillin C, Frenette CT, Waalen J, et al. Morphometry Confirms
500 Fibrosis Regression From Sustained Virologic Response to Direct-Acting Antivirals
501 for Hepatitis C. *Hepatol Commun.* 2018;2: 1320–1330. doi:10.1002/hep4.1228
- 502 30. Toyoda H, Tada T, Yasuda S, Mizuno K, Ito T, Kumada T. Dynamic Evaluation of
503 Liver Fibrosis to Assess the Risk of Hepatocellular Carcinoma in Patients with Chronic
504 Hepatitis C Who Achieved Sustained Virologic Response. *Clin Infect Dis.* 2020;70:
505 1208–1214. doi:10.1093/cid/ciz359
- 506 31. Yamada R, Hiramatsu N, Oze T, Urabe A, Tahata Y, Morishita N, et al. Incidence and
507 risk factors of hepatocellular carcinoma change over time in patients with hepatitis C
508 virus infection who achieved sustained virologic response. *Hepatol Res.* 2019;49: 570–
509 578. doi:10.1111/hepr.13310
- 510 32. Mallet V, Gilgenkrantz H, Serpaggi J, Verkarre V, Vallet-Pichard A, Fontaine H, et al.
511 Brief Communication: The Relationship of Regression of Cirrhosis to Outcome in
512 Chronic Hepatitis C. *Ann Intern Med.* 2008;149: 399. doi:10.7326/0003-4819-149-6-
513 200809160-00006
- 514 33. Suda T, Okawa O, Masaoka R, Gyotoku Y, Tokutomi N, Katayama Y, et al. Shear
515 wave elastography in hepatitis C patients before and after antiviral therapy. *World J*
516 *Hepatol.* 2017;9: 64–68. doi:10.4254/wjh.v9.i1.64

- 517 34. Hamada K, Saitoh S, Nishino N, Fukushima D, Horikawa Y, Nishida S, et al. Shear
518 wave elastography predicts hepatocellular carcinoma risk in hepatitis C patients after
519 sustained virological response. *PLoS One*. 2018;13: 1–11.
520 doi:10.1371/journal.pone.0195173
- 521 35. Rios DA, Valva P, Casciato PC, Frias S, Soledad Caldirola M, Gaillard MI, et al.
522 Chronic hepatitis C liver microenvironment: Role of the Th17/Treg interplay related to
523 fibrogenesis. *Sci Rep*. 2017;7. doi:10.1038/s41598-017-13777-3
- 524 36. Medel MLH, Reyes GG, Porras LM, Bernal AR, Luna JS, Garcia AP, et al. Prolactin
525 Induces IL-2 Associated TRAIL Expression on Natural Killer Cells from Chronic
526 Hepatitis C Patients In vivo and In vitro. *Endocrine, Metab Immune Disord - Drug*
527 *Targets*. 2019;19: 975–984. doi:10.2174/1871530319666181206125545
- 528 37. Winckler FC, Braz AMM, da Silva VN, Golim M de A, de Andrade VG, Machado PE
529 de A, et al. Influence of the inflammatory response on treatment of hepatitis C with
530 triple therapy. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2018;51: 731–736. doi:10.1590/0037-8682-
531 0137-2018
- 532 38. Langhans B, Nischalke HD, Krämer B, Hausen A, Dold L, van Heteren P, et al.
533 Increased peripheral CD4+ regulatory T cells persist after successful direct-acting
534 antiviral treatment of chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2017;66: 888–896.
535 doi:10.1016/j.jhep.2016.12.019
- 536 39. Abdelwahab SF. Cellular immune response to hepatitis-C-virus in subjects without
537 viremia or seroconversion: Is it important? *Infect Agent Cancer*. 2016;11: 1–12.
538 doi:10.1186/s13027-016-0070-0
- 539 40. de Groen RA, Boltjes A, Hou J, Liu BS, Mcphee F, Friborg J, et al. IFN- λ -mediated
540 IL-12 production in macrophages induces IFN- γ production in human NK cells. *Eur J*
541 *Immunol*. 2015;45: 250–259. doi:10.1002/eji.201444903
- 542 41. Yang CM, Yoon JC, Park JH, Lee JM. Hepatitis C virus impairs natural killer cell
543 activity via viral serine protease NS3. Ray R, editor. *PLoS One*. 2017;12: e0175793.
544 doi:10.1371/journal.pone.0175793
- 545 42. Fugier E, Marche H, Thélu MA, Jílková ZM, Van Campenhout N, Dufeu-Duchesne T,
546 et al. Functions of liver natural killer cells are dependent on the severity of liver
547 inflammation and fibrosis in chronic hepatitis C. Bartosch B, editor. *PLoS One*.
548 2014;9: e95614. doi:10.1371/journal.pone.0095614
- 549 43. Zhu Z, Cai T, Fan L, Lou K, Hua X, Huang Z, et al. Clinical value of immune-

- 550 inflammatory parameters to assess the severity of coronavirus disease 2019. *Int J Infect*
551 *Dis.* 2020;95: 332–339. doi:10.1016/j.ijid.2020.04.041
- 552 44. da Silva Neto P V, S de Carvalho JC, Pimentel VE, Pérez MM, Carmona-Garcia I,
553 Neto NT, et al. Prognostic value of sTREM-1 in COVID-19 patients: a biomarker 1 for
554 disease severity and mortality Corresponding: 40. *medRxiv.* 2020; 1–28.
555 doi:10.1101/2020.09.22.20199703