EVALDO STANISLAU AFFONSO DE ARAÚJO

**Estudo da cinética viral do vírus da hepatite C
em pacientes co-infectados com o HIV**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para a obtenção do título de
Doutor em Ciências

Área de Concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientador: Professor Dr. Antonio Alci Barone

São Paulo
2005

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Araújo, Evaldo Stanislau Affonso de

Estudo da cinética viral do vírus da hepatite C em pacientes co-infectados com o HIV / Evaldo Stanislau Affonso de Araújo. -- São Paulo, 2005.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias.

Área de concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Orientador: Antonio Alci Barone.

Descritores: 1.CINÉTICA 2.HEPATITE C 3.HIV 4.INTERFERON ALFA-2a

USP/FM/SBD-336/05

Dedicatória Especial

Para Gláucia, esposa e companheira amada.

Aos meus filhos, Vinícius e Evaldo, sementes que plantamos com amor e que já floresceram. Hoje vocês nos alegram, fazem sorrir, nos iluminam e também comovem, com sua bondade e seu amor sincero, “maior que o infinito”.

O Mundo é de vocês, cuidem bem dele.

Para a minha avó, Ignez, que nesse ano foi descansar junto ao Dr.Edson, meu avô.

Dedicatória

Ao meu pai, Evaldo, Homem maiúsculo desde quando ser ético ainda não era moda.

A minha mãe, Maria Ignez, meus irmãos, Nelson, Maria do Carmo, Maria Helena, Maria Olívia e sobrinhos, Mariana, Andréa, Marcela e Pedro, minha primeira família, meu porto seguro.

Ao primogênito de nossa “ninhada”, Edson. Uma pessoa especial, uma alma pura em meio ao capitalismo selvagem.

Ao Professor Barone, aqui meu amigo, Antonio, uma árvore frondosa que dá frutos e não inibe, com sua sombra, àqueles que estão ao seu lado.

Em especial, aos pacientes que, à sua maneira, humildemente, sempre quiseram ajudar aos demais, não se importando se para eles o resultado foi ou não favorável. Acredito que conseguiram seu intento.

Agradecimentos especiais

Avidan Neumann, pelo apoio fundamental na elaboração desse trabalho e pela inestimável ajuda na obtenção dos exames necessários.

Dr.Fernando F. Tatsch que, por acreditar, viabilizou esse projeto.

Dra.Norma de Paula Cavalheiro, amiga e líder de um time vitorioso.

Dr.José Luis Boechat Paione, não só por permitir a utilização do Hospital Ana Costa, mas essencialmente pela confiança, apoio e pelo exemplo de seriedade e dedicação.

“Tudo é uma questão de manter,

A mente quieta,

A espinha ereta,

E o coração tranquilo...”

Walter Franco

Para a Cláudia Courtouké, com toda a minha gratidão.

Agradecimentos

Lori Brisbin, pela cessão dos exames necessários para a análise da cinética viral.

Steve Young, pela dedicada e competente quantificação viral nas amostras enviadas.

Hospital Ana Costa de Santos, nas pessoas da Sra. Inez Rodrigues, Dra. Olimpia

Nakasone, Sra. Leandra, Sr Cícero e à toda equipe de coleta do Laboratório e de enfermagem do 2º B, pela cessão de leitos, coleta e processamento das amostras dos pacientes de Santos.

Roche Produtos Químicos e Farmacêuticos do Brasil LTDA, pela cessão do

Interferon Peguilado e apoio logístico no transporte das amostras ao exterior.

Time de Hepatites e equipe de pesquisa clínica da Roche Produtos Químicos e Farmacêuticos do Brasil LTDA .

Dr. Evandro Sobroza de Melo, pela paciente e minuciosa revisão anátomo-patológica.

Dra. Fátima Mitiko Tengan, pelo apoio e auxílio na análise estatística.

Sra. Margareth Alves Antunes, dedicada bibliotecária e prima querida.

Sr. Jeová Fragoso, pela lealdade, Sr. Sidnei Nehme, por acreditar.

A todos os amigos que caminham ao meu lado, aqui representados pelo Joselito, com o meu abraço.

A todos que direta ou indiretamente trabalharam conosco desde o início do Projeto até a conclusão desse:

Sr. Carlos Melo

Sra. Danieli Botarelli Fragoso

Sra. Magali Dias

Sra. Roseli Santo

Sra. Rosemeire Moraes

Professor Moisés Goldblaum

Sr. Josué Moreira de Souza

Sr. Rogério Ruscitto do Prado

Aos colegas que gentilmente encaminharam pacientes para participar no estudo

Tenho a felicidade de ter sorte! Ela nunca me faltou. Por mais que eu nem sempre entenda porque Deus me ajuda tanto. Se outras vidas existiram, devo ter sido Santo, naquelas, porque nessa, sou simples mortal, pecador, que mais erra do que acerta. Mas, os que me cercam são fiéis amigos, conselheiros, colaboradores e nunca me deixaram desviar dos caminhos que são certos. A vida é complicada, temos que ser um pouco mágicos para conciliar tantos afazeres, um tanto artistas para não perder o sorriso, não deixar de amar. Nem sempre consegui, reconheço ! Mas agora a vida recomeça. Ainda não entendi direito o que tudo isso significa e muito menos onde vamos chegar, mas é certo que minha responsabilidade aumentou, e essa deve ser a essência do Doutor, saber dividir o conhecimento e multiplicar as boas idéias, do Ser e da Ciência. Vamos em frente, o novo nos aguarda e, de verdade, o sonho nunca acaba !

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas

Resumo

Summary

INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	19
MÉTODOS	21
Desenho e desenvolvimento do Estudo.....	24
Quantificação do RNA do VHC	26
Preparação das amostras e controle.....	27
Transcrição Reversa, Amplificação e Detecção.....	27
Interpretação dos resultados	28
Anatomia Patológica	29
Coleta de amostras para cinética viral.....	29
Seguimento.....	31
Modelagem matemática e cálculo dos parâmetros cinéticos	31
Obtenção dos parâmetros cinéticos.....	34
Meia-vida, produção e eliminação virais.	35
Outras estimativas.	36
Análise estatística.....	37
RESULTADOS.....	40
DISCUSSÃO	95
CONCLUSÕES	135
ANEXOS	139
REFERÊNCIAS.....	180

LISTA DE ABREVIATURAS

ART	–	terapia antiretroviral
cp	–	cópias
CV	–	carga viral
DMIP	–	Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias
DP	–	Desvio Padrão
EV	–	eliminação viral
FMUSP	–	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HAART	–	terapia antiretroviral de alta eficácia
HIV	–	Vírus da Imunodeficiência Humana
ICHC	–	Instituto Central do Hospital das Clínicas
IFN	–	Interferon
IP	–	Inibidor de Protease
ISDR	–	Região Determinante de Sensibilidade ao Interferon
ISG	–	Gene Estimulado pelo Interferon
ITRNN	–	Inibidor de Transcriptase Reversa Não Análogo Nucleosídeo
ITT	–	Análise por Intenção de Tratamento
KDa	–	Kilodalton
LIM	–	Laboratório de Investigação Médica
LOF	–	<i>lost of follow up</i>
LSN	–	limite superior do normal
ml	–	mililitro
NR	–	Não Respondedor

OAS	–	Oligo Adenil Sintetase
OMS	–	Organização Mundial da Saúde
PBMC	–	células mononucleares periféricas
PCR	–	Reação em Cadeia da Polimerase
PKR	–	Proteína Quinase R
PV	–	produção viral
RNApol	–	RNA polimerase
RVP	–	Resposta Viroológica Precoce
RNS	–	Resposta Não Sustentada
RVS	–	Resposta Viroológica Sustentada
$t_{1/2}$	–	meia vida dos vírions
$*t_{1/2}$	–	meia vida das células infectadas
TND	–	<i>target not detected</i>
UI	–	Unidades Internacionais
VHB	–	Vírus da Hepatite B
VHC	–	Vírus da Hepatite C
VPN	–	Valor preditivo negativo
VPP	–	Valor Preditivo Positivo

RESUMO

Araujo ESA. *Estudo da cinética viral do vírus da hepatite C em pacientes co-infectados com o HIV* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2005. 194p.

Vinte e seis pacientes portadores de Hepatite C crônica e co-infectados pelo HIV, sem outras causas para hepatopatia e virgens para a terapia do VHC, foram tratados com Interferon Peguilado Alfa 2a de 40 KDa associado a Ribavirina por 48 semanas. Coletamos 20 amostras - horas 0, 4, 8, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, dias 3, 4, 7, 8, 15, 22, 29, 43, 57 e semana 12 - para quantificação do HCV (TaqMan[®]) e do HIV após o início da terapia. Os dados basais evidenciavam que o Genótipo 1 correspondia a 15 pacientes, enquanto o Genótipo 3 a 11. A mediana do VHC foi de 1.285.000 UI/ml, CD4 médio 573/mm³ e a média da carga viral do HIV 1109 cp/ml. Em uma análise por intenção de tratamento, o percentual obtido de resposta virológica sustentada (RVS) foi 26,9%. A única correlação estatisticamente significativa entre as variáveis analisadas e parâmetros cinéticos calculados, e a obtenção de RVS ocorreu entre RVS e Genótipo 3 ($p < 0,04$). Houve ajuste para os parâmetros cinéticos calculados para 18 pacientes. Pacientes com RVS apresentaram maiores taxas de eficiência do Interferon, eliminação de células infectadas e eliminação de vírions livres, assim como as Fases 1 e 2 foram mais rápidas entre eles. A ausência de redução do VHC de um log₁₀ em 24 ou 48 horas, obteve um VPN de 100% para RVS. Ausência de queda de dois log₁₀ nos dias oito e 29 obteve VPN de 92,31% e 100%, havendo associação entre a presença dessa resposta virológica precoce (RVP) e a obtenção de RVS ($p=0,003$ e $p=0,01$). A cinética viral mostra-se uma ferramenta útil no manejo clínico e predição muito precoce da ausência de RVS, o que é muito importante, particularmente para os co-infectados com o HIV, ante o complexo manuseio clínico dessa situação.

SUMMARY

Araujo ESA. *HCV Viral kinetics among HIV co-infected patients* [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2005. 194p.

Twenty six co-infected patients were treated with PegIFN A2A and Ribavirin for 48 weeks. Twenty samples were drawn at hours 0, 4, 8, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, days 3, 4, 7, 8, 22, 29, 43, 57 and week 12 to HIV and HCV (TaqMan[®]) quantification after began medication. Basal data showed Genotype 1 in 15 patients, 3 in 11. Median HCV were 1.285.000 UI/ml, mean CD4 573/mm³ and mean HIV 1109 cp/ml. SVR was associated only with Genotype 3 ($p < 0,04$). Overall SVR (ITT) were 26,9%. We obtained fitted viral kinetics parameters for 18 patients. Patients with SVR showed higher Interferon efficacy, infected cells clearance, free virion clearance and faster phase 1 and 2. Reduction on HCV load of less than one log₁₀ at 24 or 48 hs had a NPV of 100% for SVR. Less than two log decay at days 8 and 29 had 92,31 and 100% of NPV and the presence of those reduction were associated with SVR ($p = 0,003$ and $p = 0,01$). Viral kinetics are an important tool regarding clinic management and very early prediction of absence of SVR, which is very important for the HIV co-infected patients for whom the clinical management is very complex.

INTRODUÇÃO

A utilização de um modelo matemático para o estudo da interação biológica entre o Homem e um ou mais vírus é um conceito que merece uma detida reflexão, não fosse pela complexidade da situação, por certo pelo inusitado da junção da Ciência Biológica com a Ciência Exata. A partir da disponibilidade de potentes ferramentas para a detecção e quantificação de DNA e RNA virais, começamos a ter a noção da presença de uma certa quantidade de vírus no sangue e em outros espécimes biológicos acessíveis para exame. No entanto, essa era uma percepção estática que não permitia avaliar o que estava de fato ocorrendo *in vivo*. Havia a necessidade, portanto, de um modelo que satisfizesse a visão da dinâmica que por certo havia nessa interação parasita-hospedeiro. Mais, modelos que incluíssem em sua concepção a possibilidade de controle, e não erradicação, da replicação desses vírus para os quais ainda não temos medicamentos que permitam a sua completa eliminação, ou seja, as intervenções terapêuticas são parcialmente eficazes, controlando a replicação viral enquanto há exposição à droga.

Inicialmente essa visão cinética, onde um modelo infeccioso de equilíbrio entre compartimentos diversos era perturbado pela terapia, foi descrita e reproduzida para o HIV e as drogas anti-retrovirais, inicialmente Inibidores de Protease e depois Inibidores de Transcriptase Reversa Não Análogos Nucleosídeos⁽²⁷⁾. Assim, a partir de um estado de equilíbrio onde a produção viral é igual à taxa de eliminação, o desequilíbrio acarretado pela redução da população viral ocasionado pela terapia

antiviral permite conhecer as taxas de produção e eliminação viral, bem como as taxas de eliminação e renovação de células infectadas e não infectadas⁽³⁵⁾.

Zeuzem e colaboradores⁽⁸⁹⁾ aplicaram os conceitos derivados dos estudos com HIV e apresentaram os primeiros resultados de um modelo cinético para o VHC, onde calculavam uma meia vida de $2,7 \pm 1,3$ dias e uma taxa de eliminação viral rápida de $0,7 \pm 0,4$ dias. Sugeriam ainda a ação do Interferon alfa inibindo a infecção *de novo* das células susceptíveis e especulavam sobre a relevância dos primeiros dias da terapia como foco essencial para estudo. Em 1998 Neumann⁽⁵⁴⁾ e colaboradores não só ratificam parte das conclusões de Zeuzem, como estabelecem o modelo matemático que se tornou o padrão para o estudo cinético do VHC iniciando assim, de forma sólida, a vertente que estuda o comportamento do VHC ante a terapia baseada no Interferon alfa, onde a quantificação e o monitoramento da queda da carga viral devem ser feitos freqüentemente e os modelos matemáticos são utilizados para interpretar os dados coletados.

As equações utilizadas nos modelos matemáticos, como veremos adiante, representam os compartimentos viral, células infectadas e células-alvo. No caso do HIV as células consideradas são os linfócitos $CD4^+$ enquanto para o VHC e o VHB as células são os hepatócitos.

Didaticamente, segundo Layden⁽³⁵⁾, a taxa de infecção dos hepatócitos pelo vírus circulante ocorre a uma taxa β . Tais hepatócitos tornam-se células produtoras de vírus. Os hepatócitos não infectados possuem uma taxa de renovação lenta, uma constante d , sendo substituídos por novas células a uma taxa s . Devido a meia vida longa, a morte dos hepatócitos não infectados não é considerada nos cálculos. Já os hepatócitos infectados morrem a uma taxa δ . A morte ocorre por necrose ou apoptose

das células infectadas. A presença de partículas virais livres durante a infecção crônica, depende do balanço entre produção a partir de células infectadas (p) e a eliminação do sangue (c). As drogas antivirais podem reduzir a viremia bloqueando a infecção *de novo* das células alvo com um grau de eficácia variável simbolizado por, η . Nesse caso a redução da viremia decorre da perda dos vírus produzidos pelas células infectadas. O agente pode ainda reduzir a carga viral inibindo a produção viral a partir da eliminação de partículas virais livres no sangue. Essa ação ocorre com um grau variável de eficácia, representado por, ϵ , onde zero corresponde a nenhuma eficiência e 1 representa eficiência máxima.

Nos modelos descritos o padrão clássico de comportamento é a presença de uma curva bifásica, ou seja, em um primeiro momento uma rápida queda da viremia seguida de uma queda menos acentuada. A primeira fase (Fase 1) representa a rápida queda da viremia que ocorre por ação do Interferon alfa. Sua duração é de 24 a 48 horas e está diretamente associada à dose do medicamento, cuja ação se dá no bloqueio parcial da infecção *de novo* de células-alvo não-infectadas e da liberação de partículas virais a partir de células infectadas. Em suma, o Interferon alfa inibe a produção viral permitindo que os mecanismos de eliminação existentes, então, reduzam a concentração plasmática do VHC. Seguindo a Fase 1 temos uma segunda fase (Fase 2), caracterizada por uma dramática redução na velocidade de queda da carga viral. A Fase 2 apresenta uma grande variação individual, e é determinada por dois parâmetros: a efetividade do Interferon (ϵ) e a taxa de morte das células infectadas (δ). Além disso, a ação de citocinas induzidas por células T também pode participar da redução da viremia na Fase 2⁽³⁵⁾. A despeito da relevante ação da Ribavirina na prevenção de recidivas tardias, do ponto de vista matemático

seu papel é desprovido de maior relevância, sendo as oscilações na carga viral do VHC decorrentes da sua presença, mínimas⁽³⁵⁾. No entanto, posteriormente, Herrmann e colaboradores⁽²⁴⁾ evidenciaram que a Ribavirina não interfere com a eficiência do Interferon (ϵ) mas aumenta em duas vezes a taxa de eliminação de hepatócitos infectados (δ), justificando assim seu papel na redução da taxa de recidivas tardias. A falta de atuação precoce não surpreende, dada a insuficiência de tempo para que a Ribavirina atinja uma concentração plasmática efetiva⁽⁴⁵⁾. Finalmente, existem referências a uma terceira fase, um platô, que antecede a Fase 2⁽³⁰⁾ e pode durar entre sete e 21 dias. A explicação para tanto seria a de um período onde a resposta imunológica ao VHC estaria ausente, ou seria insuficiente. Apenas após o estabelecimento da resposta imune é que teríamos o início da queda da carga viral e o início da Fase 2. Essa explicação é, no entanto, absolutamente hipotética e sem comprovação⁽⁴⁵⁾ pois a reconstituição de resposta imune ao VHC é descrita de maneira não uniforme e, quando descrita, não coincide cronologicamente com o tempo para o decaimento que sucede a fase de platô⁽⁴⁵⁾.

Nesse ponto será interessante abriremos um parêntese para discutir uma nova teoria apresentada para justificar as ações de “potencialização” da resposta imune mediadas pelo Interferon. A teoria da “Homeostase Replicativa” prevê mecanismos de perpetuação viral - a despeito de mutações constantes e da formação de *quasispécies* - e escape imune, e propõe que o Interferon, diferentemente do que os estudos clínicos cinéticos e *in vitro* preconizam, teria uma ação direta no vírus, e não imune-mediada. Haveria a formação de um complexo entre o Interferon e a RNA polimerase viral (RNAPol), reduzindo, assim, a reprodutibilidade do VHC e incrementando a fidelidade das cópias, ou seja, a taxa de mutação seria reduzida e

seria apresentado um alvo mais homogêneo ao ataque do sistema imune, o que aparentemente se traduziria cineticamente por uma “resposta imune” interferon induzida e justificaria uma maior resposta em determinados genótipos⁽⁷⁰⁾. Por se tratar de uma nova teoria, que em última análise ainda remete ao essencial papel da resposta imune ao VHC, ainda devemos acompanhar a sua comprovação, no entanto, o platô descrito poderia ser o tempo necessário para a interação do Interferon com o VHC e a transformação do padrão de replicação do último tornando-o mais susceptível à resposta imune do hospedeiro.

O estudo da cinética viral sustenta-se em dois preceitos básicos. O primeiro deles é que, uma vez estabelecida a infecção crônica pelo VHC temos um estado de equilíbrio dinâmico onde a quantidade de vírus no soro vai se manter estável, com variações desprezíveis e menores que $0,5 \log_{10}$,⁽⁵⁶⁾ ao longo do tempo. O segundo é que a população viral distribui-se em compartimentos distintos, como já mencionado. Nos hepatócitos infectados (compartimento 1) são produzidos novos vírions que são então lançados, a uma taxa constante, na circulação (compartimento 2). Posteriormente, as partículas virais livres da circulação são destruídas, também a uma taxa constante, em um compartimento de degradação (compartimento 3), além de infectar outros hepatócitos, ainda não infectados (infecção *de novo*) ou já infectados (superinfecção), novamente a uma taxa constante que, no entanto, não pode ser mensurada. O compartimento 1 representa o conjunto de hepatócitos (e sítios extra-hepáticos) enquanto o segundo compartimento equivale à concentração plasmática do vírus, e o terceiro é um compartimento virtual de eliminação viral⁽⁸⁹⁾. O compartimento extra-hepático integra esse equilíbrio, porém, não é mensurado e, portanto, não é considerado nos estudos cinéticos. A representação dos mesmos é

expressa na Figura 1. Portanto, o estudo da cinética viral do VHC descreve o comportamento do vírus após o desequilíbrio trazido ao sistema compartimental por uma intervenção alheia ao mesmo, como o que ocorre após uma brusca redução da viremia decorrente da adoção de uma medida terapêutica.

Figura 1: Ilustração dos três compartimentos principais existentes na infecção pelo VHC. O compartimento 1, caracterizado pelos hepatócitos infectados e sítios extra-hepáticos, o compartimento 2 representa o *pool* circulante de vírus no sangue e o terceiro compartimento é o compartimento virtual onde ocorre a destruição das partículas virais e células infectadas. Representados ainda a renovação constante em hepatócitos saudáveis e infectados, assim como a infecção de hepatócitos saudáveis e superinfecção de hepatócitos infectados.

De acordo com o tipo de ação ou célula predominante em cada um dos compartimentos avaliados, nomeia-se a variável a ser estudada nas diferentes equações cinéticas. Assim temos os compartimentos de vírus livre no plasma (V), células infectadas produtoras de vírus (I), e alvos não infectados (T), representados na figura 2. Os processos biológicos que descrevem a influência inter-compartimental são representados pelos parâmetros produção viral (p), infecção *de novo* (β), eliminação viral (c) e perda das células infectadas (δ). Temos ainda as constantes de produção (s) e morte (d) de células não infectadas ⁽²⁶⁾.

Figura 2: Visualização dos compartimentos cinéticos: vírions livres no sangue (V), hepatócitos infectados produtores de vírus (I), hepatócitos não-infectados alvo de infecção (T) e respectivos parâmetros de inter-relação biológica: produção viral (p), infecção *de novo* (β), eliminação viral (c) e perda de células infectadas (δ). Representada ainda a renovação natural de células-alvo (T) não infectadas, repostas e eliminadas a constantes “ d ” e “ s ”.

Para cada compartimento, Neumann e colaboradores, descreveram uma equação específica, sendo esse o modelo matemático mais utilizado para estudar a cinética do VHC. O modelo de três compartimentos é assim representado :

Equação 1 – Compartimento vírus livre (sangue) - V

$$\frac{dV(t)}{dt} = (1 - \varepsilon)pI(t) - cV(t)$$

Equação 2 – Compartimento de produção (hepatócitos) – células infectadas - I

$$\frac{dI(t)}{dt} = (1 - \eta)\beta T(t)V(t) - \delta I(t)$$

Equação 3 – Compartimento células alvo (hepatócito não-infectados) - T

$$\frac{dT(t)}{dt} = s - dT(t) - (1 - \eta)\beta T(t)V(t)$$

Nessas equações temos o acréscimo dos parâmetros ε , que representa a eficiência da terapia atuando na produção, e η , que representa a eficiência na produção *de novo*.

A primeira equação, do compartimento plasmático, representa a variação da carga viral em um intervalo finito de tempo $\left(\frac{dV(t)}{dt}\right)$. O termo, $1 - \varepsilon$, corresponde à eficácia do Interferon, em relação à produção de novos vírions, $pI(t)$. O termo, $cV(t)$, representa a eliminação (“clareamento”) viral. A segunda, compartimento de células infectadas, representa a variação do número de células infectadas em um intervalo finito de tempo $\left(\frac{dI(t)}{dt}\right)$. O termo $\beta T(t)V(t)$ corresponde à relação entre a produção de células infectadas “*de novo*” e da viremia sob a ação da droga-terapia, simbolizada pelo fator, $(1 - \eta)$. O último termo, representa a taxa de eliminação das células

infectadas, $\delta I(t)$. Finalmente, a terceira equação representa a variação das células-alvo $\left(\frac{dT(t)}{dt}\right)$ em um intervalo finito de tempo. A diferença entre a produção e a morte das células não infectadas, é simbolizada por $s - dT(t)$. O termo $(1 - \eta)\beta T(t)V(t)$, é subtraído devido à Lei da Ação das Massas. Como condição essencial, Neumann e colaboradores estabeleceram que a eficiência do Interferon é mantida constante ao longo do tempo, para $t > t_0$.

Como referido, a representação gráfica das curvas de decaimento do VHC segue, habitualmente, um modelo bifásico, com uma fase inicial rápida (Fase 1), com duração de 24 a 48 horas, durante a qual ocorre uma significativa redução da viremia, e uma segunda fase, de redução mais lenta (Fase 2), que representa a eliminação do reservatório de células infectadas produtoras de vírus. Excepcionalmente podemos observar um modelo trifásico, onde um platô aparece entre a Fase 1 e 2, ou mesmo, curvas com períodos de discreto incremento da viremia ou linhas retas, sem qualquer redução ante à terapia ⁽²⁶⁾.

O estudo da cinética do VHC permite avaliar, entre outros fenômenos, quais são os mecanismos de ação do Interferon alfa sobre o vírus. O cálculo da taxa de eliminação dos vírions livres (c) e células infectadas (δ) e, particularmente, da eficiência de inibição da produção viral (ϵ) permite a comparação, por exemplo, entre os comportamentos de distintos genótipos virais e a eficácia entre os diferentes tipos de Interferons disponíveis. Outro aspecto relevante e associado ao manuseio clínico é a predição precoce da resposta virológica sustentada. Finalmente, a cinética permite avaliar a influência de fatores do hospedeiro (fatores raciais, por exemplo), sobre a cinética do VHC.

A partir desse ponto, revisaremos aspectos críticos da co-infecção HIV-VHC, necessários para compreender o cenário onde nosso estudo se insere.

O melhor controle do HIV, a partir da introdução da terapia anti-retroviral de alta eficácia (*HAART*) descortinou o grande desafio da co-infecção entre os Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) e da Hepatite C (VHC). Assim, a maior sobrevivência dos infectados pelo HIV permitiu que a doença hepática decorrente da infecção pelo VHC e potencializada por estágios diferentes de imunodepressão, se revelasse como uma das principais causas de morte entre os portadores do HIV, a ponto de se considerar a Hepatite C uma verdadeira “Infecção Oportunista”⁽⁷⁷⁾: mais prevalente entre portadores do HIV e de pior evolução nos mesmos.

A co-infecção está presente em até 30% dos pacientes infectados pelo HIV na Europa e nos EUA⁽⁶⁷⁾, podendo chegar a 60-90% entre os hemofílicos HIV positivos e maior que 90% dos usuários de drogas intravenosas⁽⁴²⁾. No Brasil, em um estudo realizado em São Paulo, a positividade entre 1457 testados foi de 17,7%, sendo de 54,5% entre os usuários de drogas injetáveis. O fato de serem vírus de transmissão essencialmente parenteral explica a maior prevalência entre usuários de drogas. Estima-se em 40 milhões o número de portadores do HIV no mundo e entre 60 a 180 milhões do VHC, que é pelo menos 10 vezes mais transmissível que o HIV⁽⁶⁷⁾. A transmissão sexual do VHC não é tão eficaz, fato comprovado pela baixa prevalência entre homossexuais masculinos (4 a 8%)⁽⁶⁷⁾. Apesar disso, a co-infecção favorece a transmissão sexual do VHC, que ocorre em 18,7% dos parceiros fixos de portadores do HIV contra apenas 1,6% de parceiros estáveis de um portador apenas do VHC⁽⁸⁵⁾. A promiscuidade sexual e práticas que levem a exposição a sangue elevam o risco de contágio^(75,67). A transmissão perinatal do VHC é facilitada

pelo HIV. Em gestantes co-infectadas, uma metá-análise de 2382 crianças nascidas dessas, evidenciou um incremento no risco de transmissão do VHC de 2,8 vezes⁽⁸⁵⁾. No entanto, gestantes que façam uso de HAART e parto cesárea possuem risco menor que 1% de infectar seus filhos com o VHC⁽⁶⁷⁾.

O problema da co-infecção torna-se mais preocupante se no atual cenário (onde a transmissão por sangue e derivados usados terapeuticamente e a existência de uma política de uso único, além da adequada esterilização de equipamentos para uso parenteral, reduziu as novas infecções) se não modificarmos as políticas voltadas às populações de comportamento marginal, socialmente excluídas e usuárias de drogas. Esse grupo é um grande reservatório para novas infecções. Um estudo dos EUA evidenciou que 29,7% dos encarcerados já são infectados pelo VHC, sendo a co-infecção com HIV da ordem de 65%⁽⁷⁴⁾. Além disso, coortes de jovens usuários de drogas revelam uma elevada prevalência de co-infecção e rápida aquisição da co-infecção em até três anos de seguimento, com participação representativa de mulheres (com potencial para transmissão vertical futura)⁽⁴⁸⁾.

Atualmente as mortes por doença hepática crônica perfazem mais de 45% do total entre os pacientes hospitalizados e que fazem uso de HAART⁽⁶⁷⁾. O risco de morte após 25 anos de contágio é de 1,2% para os monoinfectados pelo VHC e de 6,5% para os co-infectados, sendo o risco de uma descompensação hepática grave 6,14 vezes maior para os co-infectados se comparados aos monoinfectados pelo VHC⁽⁸⁵⁾. Duas análises recentes evidenciam, no entanto, que o controle da infecção pelo HIV, utilizando HAART, com elevação do CD4 a mais de 200 células/mm³ e redução da carga viral reduzem o risco de morte de forma significativa^(8,66). Dessa forma, a despeito de eventuais interações, o uso do HAART associa-se com benefícios que superam sua potencial toxicidade, como discutiremos adiante.

Nitidamente os efeitos deletérios da doença acarretada pelo VHC decorrem do grau de lesão hepática, em particular porque na co-infecção os efeitos extra-hepáticos associados ao VHC são irrelevantes e as doenças linfoproliferativas apresentam a mesma frequência que nos mono-infectados pelo VHC⁽⁹⁾. Como mencionado, a morte por doença hepática é relevante nos co-infectados e, de fato, a história natural da doença é claramente acelerada, principalmente nos pacientes mais imunodeprimidos, estando a cirrose presente em até 25% dos pacientes em 10-15 anos após a infecção pelo VHC, sendo a média para o aparecimento de cirrose após a infecção pelo VHC de 23 anos nos monoinfectados e de sete anos nos co-infectados^(68,86). Tal fato se explica por uma maior taxa de progressão da fibrose. Além disso, há um predomínio de formas mais avançadas de fibrose entre os co-infectados e uma precocidade no aparecimento do carcinoma hepatocelular^(68,86). Além da maior fibrogênese, a idade mais avançada na infecção, consumo de álcool, genótipo 1, carga viral elevada e baixa contagem de células CD4+ são outros fatores associados à fibrose, embora não homogeneamente, entre todos os estudos de seguimento⁽⁸⁵⁾. Um tipo de lesão associado com maior progressão da fibrose é a esteatose hepática. A esteatose é favorecida por alterações mitocondriais induzidas pela proteína “core” do VHC, uso de álcool e infecção pelo genótipo 3. Em portadores do genótipo 1 e 2 a obesidade possui um papel preponderante no incremento da esteato-hepatite que agrava a fibrogênese⁽⁶⁷⁾.

Recentemente, Rullier et al⁽⁶⁹⁾ publicaram um estudo morfológico prospectivo tipo caso-controle entre monoinfectados por VHC e co-infectados com HIV, marcados e controlados para os maiores fatores associados à fibrose. Concluem, principalmente, que a despeito do grau de imunidade, mesmo em

pacientes com a resposta imune preservada há uma maior fibrose em co-infectados. Por essa razão, preconizam um tratamento prioritário e precoce do VHC, uma vez que a interação é deletéria mesmo em fase de melhor controle do HIV. Destacam em particular a relevância do espaço peri-sinusoidal, postulando que uma estimulação de células estreladas, com conseqüente deposição de matriz extra-celular, feitas por células de Kupfer e endoteliais infectadas pelo HIV, seria o mecanismo responsável, caracterizando um efeito citopático direto do HIV⁽⁸⁵⁾, também implicado em proliferação dos hepatócitos e, em decorrência, maior lesão⁽¹⁰⁾. Além disso, descrevem uma alteração do perfil de resposta imune, com maior presença de células NK (CD3+ e CD56+) e redução das células CD4+ entre os co-infectados. O número de células CD8+ foi semelhante entre ambos, bem como a carga viral de VHC não foi relevante, diferentemente de outros estudos que postulam que a depleção do CD4+ acarreta uma excessiva presença de VHC e associa-se com lesão, particularmente uma síndrome de hepatite colestática fibrosante⁽²⁾. No entanto, o papel da carga viral do VHC intra-hepático e plasmático – que é maior entre os co-infectados – ainda está por se definir⁽¹⁰⁾. Um fato também descrito é alteração do perfil de citocinas de Th1 no mono-infectado para Th2 no co-infectado⁽¹⁰⁾ ou ainda, excesso de resposta Th1 nesses⁽⁸⁵⁾. Finalmente, há um incremento da apoptose de hepatócitos que é induzida tanto pelo HIV quanto pelo VHC⁽⁶⁷⁾.

A princípio, particularmente influenciados pela Coorte Suiça, acreditava-se que havia uma influência negativa do VHC sobre o curso da infecção causada pelo HIV. Isso se evidenciava pela maior progressão para AIDS e morte, menor recuperação do CD4 e redução da carga viral do HIV após o início dos antiretrovirais. Com o passar do tempo observou-se que tal fato não é inexorável e que

a instituição do *HAART* pode reverter tal condição, mesmo na Coorte Suíça⁽⁶⁷⁾. Assim, sem dúvida essa é uma relação desigual onde o maior prejudicado é o vírus VHC cuja evolução é alterada decisivamente na co-infecção com o HIV, como discutimos anteriormente. Os estudos de seguimento de longo prazo têm evidenciado uma sobrevida semelhante entre os monoinfectados pelo HIV e co-infectados com VHC, especialmente se instituído *HAART*. Embora não haja conclusivamente um efeito deletério do VHC sobre o HIV, a condução clínica dos co-infectados é mais trabalhosa e até mesmo prejudicada, seja por alterações na terapia decorrente de efeitos adversos, seja por aspectos comportamentais próprios de usuários de drogas que interfiram com a adesão à terapia, bem como à prescrição mais tardia desta⁽⁷⁵⁾. Devemos ainda ter em conta que a contínua estimulação imune acarretada pelo VHC favorece a replicação do HIV e todas suas potenciais conseqüências – como a maior destruição de células CD4.

O controle do HIV obtido com a terapia anti-retroviral também é mais difícil na população co-infectada ante o potencial da toxicidade hepática associada ao *HAART* e a interação com a Ribavirina. Em relação à toxicidade associada aos antiretrovirais, o próprio HIV (Tat), bem como o VHC (core), reduzem a oferta de glutathione intra-celular reduzindo os mecanismos de defesa anti-oxidante dos hepatócitos e mitocôndrias⁽⁶⁾. Os pacientes com HIV são, portanto mais susceptíveis a “lesão hepática induzida por droga”, incorretamente chamada de hepatotoxicidade, caracterizada por elevação de transaminases e/ou bilirrubinas. Nos co-infectados em uso de *HAART* o risco é de 2 a 10 vezes maior, porém os benefícios da terapia ultrapassam largamente seus potenciais riscos. Na maior parte dos casos, apenas o monitoramento laboratorial é suficiente, no entanto, quando temos elevações grau 3

(acima de 5 vezes o LSN) ou, particularmente, 4 (acima de 10 vezes o LSN), a suspensão das drogas é recomendável ⁽⁷⁾. Sabe-se, no entanto, que a maioria dos pacientes em uso de IP ou ITRNN desenvolve elevações de transaminases 6 a 20 semanas após o início de seu uso e habitualmente mantém-se abaixo de elevações grau 3 ou 4. No entanto, para portadores de elevações basais e portadores de hepatite viral crônica, recomenda-se maior cautela e que se evite outros possíveis agentes hepatotóxicos. O VHC é um preditor independente de elevação de transaminases ⁽⁶⁾.

Finalmente, a despeito dos recentes avanços, a terapia do VHC em co-infectados mostra-se inferior à dos não co-infectados pelo HIV, sendo ainda os índices de sucesso inferiores aos desejados, mesmo com a associação do Interferon Peguilado a Ribavirina.

A terapia padrão nos co-infectados é associação Ribavirina e Interferon Peguilado, prescrita idealmente aos que possuem CD4 acima de 350/mm³ e viremia abaixo de 50.000 cp/ml de HIV. Pacientes com CD4 abaixo de 200/mm³ não devem ser tratados e os que estão entre 200 e 350/mm³, ou ainda com elevada carga viral de HIV, devem ter seu quadro controlado por *HAART*. A ALT deve estar elevada e/ou haver fibrose hepática acima de F1- METAVIR⁽⁴⁷⁾. ALT normal pode ser tratada se houver suficiente fibrose. A duração da terapia será de 48 semanas para todos, sendo que a aferição de Resposta Viroológica Precoce na semana 12 da terapia é aparentemente acurada na predição dde RVS⁽⁶⁷⁾.

Na co-infecção, o tratamento do VHC é menos eficaz em função de vários fatores: disfunção imune, fibrose avançada, esteatose severa, viremia do VHC elevada, menor eliminação do VHC nas fases iniciais da terapia, recidivas frequentes, modificação e interrupção de drogas devido a efeitos adversos e menor

adesão⁽⁷⁶⁾. A despeito disso, dois estudos comparativos entre Interferon Peguilado e Convencional associados a Ribavirina evidenciam a superioridade do primeiro. No estudo com Interferon Peguilado alfa 2b – RIBAVIC - obteve-se 27% de RVS (15% no genótipo 1 e 4 e 43% no 2 e 3)⁽¹²⁾. Já no estudo com Interferon Peguilado alfa 2a – APRICOT – houve 40% de RVS (29% no genótipo 1 e 62% nos 2 e 3)⁽⁸²⁾.

Portanto, se ainda não dispomos de melhores esquemas terapêuticos, a otimização do tratamento é extremamente importante. Assim, diminuir a exposição desnecessária a medicamentos, reduzindo custos, toxicidade e melhorando a qualidade de vida dos pacientes, e, a possibilidade de prever precocemente a resposta à terapia, são desejáveis sob o ponto de vista individual e coletivo - através de Protocolos e políticas públicas de terapia mais custo-efetivas. Uma predição favorável seria um estímulo forte para melhorar a adesão à terapia, mesmo em meio a efeitos adversos severos, enquanto a predição negativa propiciaria a interrupção precoce de um tratamento não só fútil, mas também dispendioso e potencialmente desconfortável, e, por que não, perigoso. O uso dos conceitos oriundos do estudo da cinética viral ante a terapia pode ser a ferramenta desejada para tal intento.

Estudos que envolvam coletas freqüentes de amostras para quantificação viral são extremamente trabalhosos e onerosos. As poucas publicações existentes abordando a cinética nos co-infectados pelo HIV^(81,71,2,62) são, sob vários aspectos, bastante limitadas e caracterizam-se não só pela heterogeneidade mas, principalmente, por serem publicações cuja análise é um subproduto de outras *coortes*, o número de pacientes avaliados é pequeno, a terapia realizada não utilizou doses plenas de Ribavirina e o Interferon pode ter sido não Peguilado - portanto fora do padrão atual de terapia na co-infecção. Além disso, a freqüência de coleta, quando

o desenho voltou-se para cinética, foi relativamente pequeno. São limitados ainda por terem utilizado métodos de quantificação cuja amplitude de detecção fica aquém da necessária nos estudos de cinética viral que demandam metodologias reprodutíveis e com capacidade de detecção desde valores muito pequenos até um limite superior de milhões de Unidades Internacionais (UI) por mililitro (ml), como é o caso da detecção por *Real Time PCR* ⁽⁵⁸⁾. Por fim, nenhum dos estudos já realizados avaliou o potencial impacto da terapia com Interferon e Ribavirina sobre o HIV. Dessa forma, nosso estudo representa uma oportunidade para conhecer melhor o comportamento cinético do VHC e do HIV em pacientes tratados com a terapia considerada padrão para a co-infecção VHC-HIV – Interferon Peguilado e Ribavirina por 48 semanas - com doses plenas de Ribavirina e metodologia para quantificação do VHC adequada, o *Real Time PCR*. Considere-se ainda a casuística composta por brasileiros, o que se mostra importante nesse momento em que as características genéticas e raciais mostram-se tão relevantes na definição da resposta virológica. Por essas razões nosso estudo estabelece os objetivos que listamos a seguir.

OBJETIVOS

- Descrever a cinética do VHC em pacientes co-infectados pelo HIV e submetidos à terapia com Interferon Peguilado e Ribavirina.
- Observar o impacto da terapia para o VHC sobre a carga viral do HIV nas primeiras doze semanas de terapia.
- Analisar a correlação entre os aspectos demográficos, clínicos, terapêuticos, virais e resposta virológica.
- Descrever a correlação entre as variáveis cinéticas e o desfecho da terapia para o VHC.
- Definir a utilidade clínica da cinética do VHC em pacientes co-infectados com o HIV e submetidos à terapia com Interferon Peguilado e Ribavirina.

MÉTODOS

Trata-se de um estudo tipo ensaio clínico realizado em 26 pacientes acompanhados no Ambulatório de Hepatites do DMIP/HC-FMUSP em uma amostra de conveniência encaminhada ao mesmo para participação no estudo.

Critérios de Inclusão:

- Hepatite C Crônica caracterizada por Anti VHC positivo e RNA viral detectado por método qualitativo (PCR) e biópsia hepática realizada até 24 meses antes da inclusão compatível com hepatite crônica (presença de infiltrado inflamatório portal) e/ou elevação persistente de ALT.
- Contagem de CD4 maior que 200/mm³ e doença pelo HIV controlada caracterizada por Carga Viral de HIV até 100.000 cópias / ml e ausência de Infecções Oportunistas ativas nos últimos seis meses.
- Abstinência de álcool e drogas ilícitas por pelo menos seis meses antes da triagem e ao longo do seguimento.
- Ausência de qualquer terapia pregressa para Hepatite C.
- Idade entre 18 a 70 anos.

Critérios de Exclusão:

- Solicitação da exclusão
- Desenvolvimento de Infecção Oportunista
- Desenvolvimento de manifestações clínicas que a critério do médico sejam potencialmente graves
- Desenvolvimento de doença orgânica ou mental sem a possibilidade de controle medicamentoso
- Não utilização de método contraceptivo ou gestação ao longo do estudo
- Desenvolvimento de alteração laboratorial considerada grave pela equipe médica e sem a possibilidade de controle clínico
- Incapacidade de adesão ao tratamento
- Uso de substâncias ilícitas ou álcool
- Interrupção da terapia sem orientação médica
- Hepatite Crônica, caracterizada por positividade do Antígeno de Superfície do VHB (AgHBs)
- Outras hepatopatias crônicas não infecciosas (hepatite auto-imune, hepatite por drogas, cirrose biliar primária, colangite esclerosante primária, Doença de Wilson, Hemocromatose, entre outras).
- Cirrose hepática descompensada ou com história de descompensação anterior
- Diagnóstico atual ou passado de hepatocarcinoma
- Doenças graves concomitantes
- Diabetes mellitus descompensado
- Alterações retinianas

- Psicose ou depressão grave
- Convulsões
- Hemoglobinopatias ou anemias hemolíticas
- Positividade para anticorpo antinúcleo igual ou maior que 1:320

Desenho e desenvolvimento do Estudo

Na fase de seleção sete pacientes foram excluídos (quatro por não adesão à seleção, um por biópsia evidenciando Fígado Reacional, um por biópsia evidenciando apenas esteatose, além do consumo ativo de drogas ilícitas, e um por não apresentar RNA viral detectável) e não foram incluídos na análise. Os demais, após a obtenção do Termo de Consentimento Informado, iniciaram a fase de triagem e coleta dos dados demográficos, epidemiológicos e clínicos específicos do Estudo. A definição quanto à etnia, para fins analíticos, foi adotada como caucasiano/branco e afro-americano/negro, não considerando outras definições raciais oriundas da miscigenação e adotadas no Brasil.

Os pacientes selecionados foram, por questões logísticas, agrupados para o início do seguimento. Cada grupo iniciou a terapia em datas distintas, sendo hospedados ou hospitalizados para a coleta das primeiras amostras, feita de forma freqüente nos primeiros dias. A terapia teve início em abril de 2003 e o término do seguimento do último grupo se deu em fevereiro de 2005. A aplicação da dose de Interferon Peguilado foi padronizada para as segundas-feiras às 08:00, sendo feita nas quatro primeiras semanas sob observação direta. Após esse período foi

dispensada a quantidade suficiente para quatro semanas, sendo devolvidos pelos pacientes os frascos vazios. Fornecemos uma tabela com as datas de coleta previstas e para a anotação das aplicações. Foram ainda realizadas as orientações necessárias quanto à conservação da medicação e aos procedimentos do Estudo. A Ribavirina foi dispensada inicialmente semanalmente e, posteriormente, a partir da quarta semana, também para quatro semanas.

Utilizamos o Interferon alfa 2a Peguilado de 40 KDa (Pegasys ®), fornecido pela Roche Farmacêutica e armazenado sob refrigeração, conforme recomendação do fabricante, em refrigerador exclusivo, no LIM 47. A Ribavirina foi fornecida pela farmácia do ICHC, em conformidade com as normas e diretrizes do Ministério da Saúde, na apresentação de cápsulas de 250 mg, fabricadas e certificadas pelo laboratório Far-Manguinhos, do Ministério da Saúde. A dose utilizada para o Interferon alfa 2a Peguilado foi de 180 mcg, pela via subcutânea, por 48 semanas, independentemente do genótipo do VHC, e de 11 mg/kg/dia de Ribavirina, até o máximo de 1,25g por dia, fracionando-se, quando necessário, a mais, de acordo com a apresentação disponível, 250 mg.

As amostras coletadas para os exames de Biologia Molecular foram centrifugadas e soradas, menos de duas horas após a coleta, para armazenamento em 04 alíquotas de 0,5 ml a – 70°C. Posteriormente foram encaminhadas, congeladas, por *courier* internacional, duas alíquotas de cada momento, codificadas e não identificadas, até a semana 12, para o laboratório executor dos métodos quantitativos, TRICORE REFERENCE LABORATORIES (Novo México, EUA). Para a quantificação do VHC utilizamos o *Real Time PCR* (COBAS TaqMan VHC Test ® - Roche Molecular Systems Inc), descrito adiante em detalhes, com limite de

detecção entre <10 e 10.000.000 UI/ml e para o HIV o teste COBAS AMPLICOR HIV-1 MONITOR Tests, v1.5 ® - Roche Molecular Systems Inc, cujo limite de detecção varia entre <50 e 100.000 cp/ml. Para os testes qualitativos utilizamos o teste Amplicor ® Hepatitis C Virus (VHC) Test, version 2.0 - Roche Molecular Systems Inc com limite de detecção a partir de 50 UI/ml. A tipagem viral foi feita utilizando-se o teste Versant VHC Genotype Assay (LiPA)® Bayer Corporation. Para a realização de todos os testes de Biologia Molecular seguimos estritamente a orientação das bulas dos mesmos. Os testes qualitativos para aferição de reposta ao término da terapia (RFT) e Resposta Viroológica Sustentada (RVS), além da tipagem viral foram realizados no LIM 47 - FMUSP. Os demais exames da rotina foram realizados no Laboratório do Instituto Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (ICHC).

Quantificação do RNA do VHC

(TaqMan VHC – PCR “Tempo Real”/ Roche Molecular Systems, Inc. Branchburg, NJ, USA)

O teste *Taq Man* delimita uma sequência de 241 nucleotídeos da região 5'NC do genoma do VHC. Durante o processo de amplificação é possível a análise dos produtos em Tempo Real devido a pequenas sequências específicas marcadas com fluorescência “*quencher dye*” que reportam a cada ciclo as quantidades de *cDNA* amplificadas.

Os reagentes foram preparados anteriormente e as amostras estavam à temperatura ambiente. A rotina para execução do método está abaixo descrita:

Preparação das amostras e controle

Primeiramente foram pipetados 625µl de solução de lise por tubo, seguido pelo acréscimo de 500µl de amostra (soro) ou controle.

A mistura sofreu agitação vigorosa por 10 segundos e imediatamente foi mantida a 50°C por 10min. Houve uma centrifugação a 4.600g por 20seg.

Na continuidade foram acrescentados 250µl de isopropanol por tubo, seguido de agitação vigorosa por 10seg. e centrifugação por 20seg. a 4.600g.

Um volume de 750µl destas amostras foi transferido para tubos de filtragem e centrifugados por 2min. a 4.600g. Outra transferência, para um novo tubo ocorreu, seguida de centrifugação por 2min. a 4.600g.

Foram pipetados 400µl de tampão de Remoção de Inibidores e houve outra centrifugação de 2min. a 4.600g.

Duas sessões de lavagem tiveram vez e foram efetuadas com volumes de 700µl do Tampão de Lavagem por tubo e centrifugadas por 2min. a 4.600g.

Para a finalização desta etapa foram acrescentados 75µl de Tampão de Eluição por tubo e também houve uma centrifugação de 3min. a 4.600g.

Transcrição Reversa, Amplificação e Detecção

O início desta etapa consistiu em somar 50µl de Tampão a 50µl de Amostra e/ou controles previamente preparados por tubo.

Na sequência, os tubos foram alocados no equipamento e dado início à sessão do *software AMPLILINK* no computador. Lembramos que para este procedimento as amostras não superaram o prazo de 2 horas após sua preparação.

O analisador COBAS TaqMan 48 (*Roche Molecular Systems, Inc. Branchburg, NJ, USA*) determina automaticamente o título de RNA do VHC para a amostra ou controle. O título de RNA é expresso em UI/ml, de acordo com a Norma Internacional para VHC da OMS para testes NAT (Tecnologia de Ácido Nucléico) 96/790.

Interpretação dos resultados

Comentário	Causa
Não detectado	Valores abaixo do nível de detecção do teste ou negativos.
<1.00E+01 UI/ml	As UI/ml calculadas estão abaixo do limite do ensaio. Comunique o resultado como RNA do VHC detectado, inferior a 10UI/ml de RNA - VHC.
Um título numérico x.xxE+xx UI/ml.	As UI/ml calculadas estão dentro do limite de detecção do ensaio.
>2.00E+08 UI/ml	As UI/ml calculadas estão acima do limite do ensaio. Comunique o resultado como superior a 2.00E+08 UI/ml de RNA-VHC.

Anatomia Patológica

Todas as biópsias foram revisadas pelo Serviço de Anatomia Patológica do HC-FMUSP, por um único patologista, não conhecedor dos dados clínicos, sendo classificadas de acordo com a classificação da Sociedade Brasileira de Patologia⁽²¹⁾ e o Sistema METAVIR⁽⁴⁷⁾, caracterizando assim pelo menos dois laudos, laudo primário e, revisado – além de “cego”. Na tabela 1 temos os resultados da revisão realizada.

Coleta de amostras para cinética viral e seguimento

Os momentos definidos para coleta de espécimes para quantificação ou detecção de RNA viral (HIV e VHC) foram:

Hora zero, 04, 08, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48 (pacientes hospedados ou hospitalizados) e 72.

Dias 04, 07, 08, 15, 22, 29, 43 e 57.

Semanas 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 40, 44, 48 e 72.

Demais exames subsidiários:

Os exames bioquímicos e hematológicos, abaixo relacionados, foram coletados a cada visita mensal ou a critério clínico, e a quantificação de CD4/CD8 a

cada 04 meses, ou de acordo com os Serviços de origem ou ainda, a critério clínico. Ainda na etapa inicial foi realizada ultra-sonografia de abdome e, se necessário, Endoscopia Digestiva Alta para avaliação da presença de varizes esofágicas.

Exames Bioquímicos e Hematológicos periódicos:

- Aminotransferases
- Fosfatase alcalina
- Gama-glutamilttransferase
- Bilirrubina total e frações
- DHL
- Creatinina
- Glicemia
- Hemograma completo
- TAP
- Alfa-fetoproteína
- Eletroforese de proteínas
- TSH e T4 livre (quadrimestral)

Seguimento

Os pacientes foram acompanhados pela equipe do Estudo com consulta clínica e/ou coleta de exames hematológicos e bioquímicos em frequência menor ou igual a 30 dias, além de ser acompanhados em seus Serviços de origem pelos médicos que os assistiam em relação ao HIV. A orientação clínica e coleta de exames de rotina para o seguimento da infecção pelo HIV (CD4/CD8 e Carga Viral do HIV) foram feitas nos Serviços de origem, cabendo à equipe do Estudo apenas a coleta de exames e acompanhamento relativos ao VHC. Após o término do seguimento foi oferecida aos pacientes a opção de se manter o atendimento também no ambulatório do DMIP.

Modelagem matemática e cálculo dos parâmetros cinéticos

1 Modelagem matemática

A modelagem matemática para a dinâmica do vírus da hepatite C, é descrita, como já mencionamos, pelo conjunto de equações diferenciais apresentadas a seguir:

$$\frac{dT(t)}{dt} = s - dT(t) - (1 - \eta)\beta T(t)V(t) \quad (1)$$

$$\frac{dI(t)}{dt} = (1 - \eta)\beta T(t)V(t) - \delta I(t) \quad (2)$$

$$\frac{dV(t)}{dt} = (1 - \varepsilon)pI(t) - cV(t) \quad (3)$$

onde T é o número de células-alvo, I é o número de células produtivamente infectadas e V é a carga viral. As células alvo, T , são regeneradas fisiologicamente com uma taxa constante s e morrem com uma taxa constante, d . As células tornam-se infectadas a uma taxa constante β e morrem a uma taxa constante δ . Os vírions da hepatite C são produzidos por células infectadas com uma taxa média de p vírions por célula por dia e são eliminados a uma taxa constante de eliminação, c . Nas equações, os termos $(1 - \varepsilon)$ e $(1 - \eta)$ correspondem a frações de produção viral e células-alvo à infecção, respectivamente, considerando a ação de terapia anti-viral.

Baseado na hipótese de que o maior efeito da droga é bloquear a produção ou a liberação viral, toma-se no modelo $\eta = 0$. Assume-se também que a carga viral e o número de células infectadas estão próximos ao equilíbrio antes da terapia ter sido iniciada, com valores base em V_0 e I_0 , respectivamente⁽⁵⁴⁾.

Se as células infectadas produtivamente vivem muito mais do que dois dias, pode-se assumir que seu número permanece relativamente constante durante os primeiros dois dias de terapia, ou seja, $I(t) = I_0$. A solução da equação (3) para a cinética viral nos primeiros dois dias de terapia é então:

$$V(t) = V_0 [1 - \varepsilon + \varepsilon \exp(-c(t - t_0))] \quad t > t_0 \quad (4)$$

onde assume-se que o decaimento viral começa no tempo t_0 , correspondente ao atraso observado entre administração da dose de Interferon e o início da ação do medicamento, possivelmente refletindo a sua farmacocinética.

Esta primeira fase de declínio rápido é seguida por uma segunda fase de eliminação viral mais lenta. As equações (1), (2) e (3), podem ser resolvidas assumindo-se que o bloqueio da produção viral, ε , e o aumento da taxa de morte das

células infectadas, δ , são mecanismos primários da ação do Interferon. Então, o declínio bifásico é representado pela soma de duas exponenciais:

$$V(t) = V_0 [A \exp(-\lambda_1(t-t_0)) + (1-A) \exp(-\lambda_2(t-t_0))], t \geq t_0 \quad (5)$$

onde

$$\lambda_1 = 0.5 \left[(c + \delta) + \sqrt{(c - \delta)^2 + 4(1 - \varepsilon)c\delta} \right] \quad (6)$$

$$\lambda_2 = 0.5 \left[(c + \delta) - \sqrt{(c - \delta)^2 + 4(1 - \varepsilon)c\delta} \right] \quad (7)$$

$$A = \frac{\varepsilon c - \lambda_2}{\lambda_1 - \lambda_2}$$

Neste estudo, recapitulamos, um conjunto de 26 pacientes co-infectados com o VHC e o HIV foram tratados com Interferon alfa-2a Peguilado de 40 KDa e Ribavirina, coletando as amostras após o início da terapia nos seguintes horários: hora zero (primeira dose), 4 horas, 8 horas, 12 horas, 18 horas, 24 horas, 30 horas, 36 horas, 42 horas, 48 horas, 72 horas, 4 dias, 7 dias, 8 dias, 15 dias, 22 dias, 29 dias, 43 dias, 57 dias, 12 semanas e mensalmente até a semana 48 e, 24 e 72 após o término da terapia.

O conjunto inicial de pacientes foi dividido em 4 grupos, discriminados pela Tabela 2, conforme as características de resposta ao tratamento e seguimento.

Para cada grupo descrito, aplicou-se o mesmo procedimento matemático - o qual será descrito em detalhe na próxima seção - para a determinação dos parâmetros cinéticos presentes nas equações (4) e (5).

Obtenção dos parâmetros cinéticos

Uma vez que se determina a primeira fase da dinâmica a ser analisada como sendo o período de 0 a 48 horas após a administração da primeira dose do Interferon, o problema então resume-se em determinar os parâmetros V_0 , t_0 , ε e c , provenientes da equação (4).

Para o conjunto de dados de estudo, algumas hipóteses iniciais foram consideradas:

- Valores de carga viral apresentados como não detectável (TND) ou menores que 1, foram tomados ambos iguais a 10^{-1} ;
- Casos em que o método para a obtenção da carga viral registrou *no sample left*, o valor correspondente foi obtido por interpolação linear *langrangeana*, ressaltando que apenas um paciente do grupo LOF necessitou desse procedimento para uma das medidas de HIV;

Para cada conjunto de dados de cada paciente, minimizou-se o conjunto de equações correspondentes, utilizando-se o método de *Levenberg-Marquardt* e dessa forma, os parâmetros relativos a essa fase foram obtidos e são apresentados nas Tabelas 3, 4 e 5. Decidiu-se ainda, não considerar o grupo *LOF*, pois para este grupo em particular, apenas um conjunto de dados, de um único paciente, gerou estimativas coerentes para os parâmetros.

Para os grupos NR e RNS foram retirados, respectivamente, um e 2 pacientes, pois o ajuste para os conjuntos de dados destes pacientes, não foi alcançado, mesmo usando-se outro método numérico.

Para a segunda fase, que se inicia após as 48 horas iniciais de tratamento, tomou-se o primeiro valor de t , do conjunto de dados disponível, tal que $t > t_0$ e a partir da equação (5), foi estimado o parâmetro δ , usando-se a minimização das equações correspondentes para conjunto de dados pelo método *Quasi-Newton*, uma vez que o método de *Levenberg-Marquardt* não se mostrou convergente para a maioria dos casos. A partir do valor de δ estimado, os parâmetros λ_1 e λ_2 foram obtidos por substituição direta nas equações (6) e (7), respectivamente.

Os parâmetros estimados para a segunda fase estão descritos nas Tabelas 6, 7 e 8.

Meia-vida, produção e eliminação virais

A partir das estimativas dos parâmetros obtidos na seção 2 é possível se determinar a meia-vida das células infectadas, $t^*_{1/2}$, e a meia-vida viral, $t_{1/2}$, que correspondem, a $\ln(2)/\delta$ e a $\ln(2)/c$, respectivamente. Pode-se ainda calcular a produção, PV , e a eliminação, EV , virais. A primeira medida refere-se à multiplicação dos fatores representados por: taxa de eliminação viral, c , a carga viral no instante em que o Interferon começa a agir, V_0 , o volume do fluido extracelular, considerado constante e igual a 13,360 ml/70 kg, e, o peso no pré-tratamento do paciente, P (kg)^(72,55). Já a segunda medida é determinada através da multiplicação dos fatores: taxa de eliminação viral, c , a carga viral no instante em que o Interferon começa a agir, V_0 , e o volume do fluido extracelular, igual a 13,360 ml/70 kg^(72,55).

Para cada grupo, estes valores foram determinados e são apresentados nas Tabelas 9, 10 e 11.

Outras estimativas

Uma outra estimativa que pode ser determinada é aquela que diz respeito ao tempo que será necessário para que a carga viral seja igual a zero UI/ml. Matematicamente, podemos igualar ambas equações (4) e (5) a zero. No entanto, esta hipótese não é facilmente sustentada, sob o ponto de vista biológico.

Logo, uma hipótese mais relaxada se faz útil. Assim sendo, as equações (4) e (5) não foram tomadas exatamente iguais a zero, mas com valor próximo de zero, mais ainda, igual a 0.1, que corresponde ao número adotado para valores de carga viral não detectável (TND).

Para a primeira fase, tem-se que:

$$V(\tau) = 0.1 \Rightarrow V_0 [1 - \varepsilon + \varepsilon \exp(-c(\tau - t_0))] = 0.1 \quad (8)$$

$$V_0 - V_0 \varepsilon + V_0 \varepsilon \exp(-c(\tau - t_0)) = 0.1$$

$$V_0 \varepsilon \exp(-c(\tau - t_0)) = 0.1 - V_0 + V_0 \varepsilon$$

$$\exp(-c(\tau - t_0)) = \frac{0.1 - V_0(1 - \varepsilon)}{V_0 \varepsilon}$$

$$V_0 \varepsilon$$

$$-c(\tau - t_0) = \ln \left(\frac{0.1 - V_0(1 - \varepsilon)}{V_0 \varepsilon} \right)$$

$$V_0 \varepsilon$$

Como, $0.1 - V_0(1 - \varepsilon) < 0$, para todos os valores de V_0, ε , ajustados anteriormente segue-se que não existe $\tau > 0$ que satisfaça a equação (8).

Para a segunda fase, iguala-se a equação (5) a 0.1:

$$V(\tau) = 0.1 \Rightarrow V_0[A \exp(-\lambda_1(\tau - t_0)) + (1 - A) \exp(-\lambda_2(\tau - t_0))] = 0.1 \quad (9)$$

A equação (9) foi resolvida pelo método da secante, fornecendo os resultados para cada grupo que estão descritos nas Tabelas 12, 13 e 14. Os casos em que o método numérico não convergiu aparecem simbolizados por um asterisco. Análises mais detalhadas destes resultados serão apresentadas nas próximas seções.

Análise estatística

O objetivo da pesquisa é descrever a cinética do VHC e verificar se existe associação entre as medidas antropométricas e medidas de carga viral com a Resposta Viroológica Sustentada e seus intermediários precoces, observando se existem diferenças nos parâmetros cinéticos calculados entre os pacientes que obtêm RVS e os pacientes que não atingem esse objetivo. Para esta análise serão utilizados apenas 18 pacientes que preencheram todos os critérios estabelecidos para tanto, a saber, seguimento completo e parâmetros calculados com ajuste matemático adequado, e 21 com desfecho conhecido para as análises que não envolvem a cinética viral calculada.

Foram realizados testes exatos de Fisher para verificar a associação entre as medidas antropométricas e os desfechos de interesse⁽¹⁾ e para verificar se houve diferença entre os parâmetros cinéticos para os diferentes desfechos terapêuticos, foram utilizados testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney⁽¹⁴⁾, o

primeiro para quando a comparação se dá para mais de duas categorias e, o segundo para apenas duas categorias de comparação.

Optou-se pelo uso de testes não paramétricos por se tratar de poucos indivíduos e por que as suposições dos testes paramétricos não foram satisfeitas para a maioria dos parâmetros como normalidade da distribuição (teste de Kolmogorov-Smirnov)⁽¹⁴⁾ e igualdade da variabilidade (teste de Levene)⁽⁵²⁾.

Os pacientes foram separados em obtendo RVS e não obtendo RVS para verificar se conjuntamente algum dos parâmetros cinéticos diferencia estes dois grupos de pacientes. Para isso foi utilizada regressão logística⁽⁵²⁾.

Os testes foram realizados ao nível de significância de 5%.

Nas tabelas 15 a 28, no anexo, apresentamos a distribuição e Frequências de resultados e dados clínicos e demográficos basais. Os cortes entre fatores favoráveis ou desfavoráveis foram definidos como apresentados nas tabelas. Resposta Viroológica Precoce (RVP) foi considerada àquela em que houve redução maior ou igual a dois log em relação à carga viral basal na semana 12 da terapia. Resposta ao Fim da Terapia (RFT) é àquela em que a detecção qualitativa do RNA do VHC foi negativa ao término da terapia (semana 48). Resposta Viroológica Sustentada é àquela em que a detecção qualitativa do RNA do VHC foi negativa 24 semanas após o término da terapia (semana 72). Adesão a Ribavirina foi uma medida subjetiva baseada na percepção das informações dos pacientes que, a despeito de receberem uma quantidade fixa de medicação suficiente para o mês, não dispunham de nenhum mecanismos eletrônico, como, por exemplo, uma embalagem especial que permitisse aferir com maior acerto a real ingestão da medicação oral.

As Tabelas 29 a 36, do anexo, apresentam as porcentagens observadas de RVS para cada medida de interesse e pela análise das mesmas, parece que apenas o genótipo tem associação com a RVS.

As Tabelas 38 a 45, no anexo, apresentam as porcentagens observadas de RVP para cada medida de interesse. Pela análise das tabelas 38 a 45, parece haver associação entre genótipo e a RVP. Os demais que aparentam associação o são devido à pequena amostra.

RESULTADOS

Tabela 1 - Patologia hepática revisada

Iniciais	Metavir		S.B.P.	
	Fibrose	Atividade	Estrutural	Atividade
MMF	F1	A2	1	2/3/2
EJC	F1	A2	1	2/3/2
AS	F0	A1	0	3/2/1
CF	F2	A1	2	2/2/1
ACS	F0	A1	0	2/1/1
JCSS	F2	A2	2	2/3/1
VAP	F1	A1	1	1/2/2
RA	F0	A2	0	2/3/2
SRS	F0	A1	0	2/2/2
ESV	F2	A2	2	2/3/2
FCDC	F1	A2	1	3/3/2
PRCF	F2	A2	2	2/3/2
LHN	F1	A2	1	2/3/2
LAS	F0	A1	0	2/2/1
CM	F0	A1	0	2/2/2
VR	F4	A1	4	2/2/1
MA	F2	A3	2	3/3/3
IH	F4	A1	4	2/2/2
ALG	F1	A1	1	1/2/1
JSR	F0	A1	0	2/2/2
JAPS	F0	A1	0	1/0/1
EAC	F4	A3	4	2/4/4
CABF	F2	A3	2	3/3/3
AMTJ	F1	A1	1	2/2/1
ASS	F1	A1	1	2/2/1
WJBD	F1	A1	1	1/2/1

Tabela 2 - Distribuição dos pacientes entre os grupos por desfecho

Discriminação	Total de pacientes
Grupo Resposta Sustentada (RVS)	7
Grupo Resposta Não-Sustentada (RNS)	11
Grupo Não-Respondedor (NR)	3
Grupo <i>Lost Follow-Up</i> (LOF)	5

Tabela 3 - Parâmetros cinéticos de Fase: 1 Grupo RVS

Paciente	V_0 (UI/ml)	ε	c (horas ⁻¹)	t_0 (horas)
MMF	2,38E+05	0,390	0,499	5,322
EJC	6,14E+05	0,969	0,064	1,208
AS	4,58E+06	0,934	0,082	10,385
CF	1,63E+05	0,973	0,052	8,023
ACS	1,01E+06	0,792	0,344	0,027
JCSS	1,98E+06	0,276	0,246	5,324
VAP	9,01E+04	0,173	0,856	0,249
média	1,24E+06	0,644	0,306	4,363
mediana	6,14E+05	0,792	0,246	5,322
DP	1,61E+06	0,352	0,294	4,025

Tabela 4 – Parâmetros cinéticos de Fase 1: Grupo RNS

Paciente	V_0 (UI/ml)	ε	c (horas ⁻¹)	t_0 (horas)
RA	4,42E+05	0,524	0,080	6,433
ESV	1,14E+06	0,992	0,058	7,969
FCDC	4,84E+06	0,993	0,061	0,964
PRCF	2,94E+06	0,282	1,336	0,026
LHN	2,20E+06	0,820	0,076	4,867
CM	3,91E+05	0,754	0,065	6,527
VR	1,92E+05	0,549	0,119	0,275
MA	1,07E+06	0,841	0,081	6,065
IH	3,39E+05	0,671	0,125	3,605
média	1,51E+06	0,714	0,222	4,081
mediana	1,07E+06	0,754	0,080	4,867
DP	1,56E+06	0,233	0,418	3,001

Tabela 5 – Parâmetros cinéticos de Fase 1: Grupo NR

Paciente	V_0 (UI/ml)	ε	c (horas ⁻¹)	t_0 (horas)
ALG	3,34E+06	0,036	2,910	0,246
JAPS	2,83E+06	0,509	0,285	4,463
média	3,08E+06	0,273	1,598	2,355
mediana	3,08E+06	0,273	1,598	2,355
DP	3,59E+05	0,334	1,856	2,982

Tabela 6 – Parâmetros cinéticos de Fase 2: Grupo RVS

Paciente	δ (horas ⁻¹)	λ_1 (horas ⁻¹)	λ_2 (horas ⁻¹)
MMF	0,165	0,611	0,053
EJC	0,627	0,629	0,062
AS	8,39E-04	0,082	7,84E-04
CF	4,27E-04	0,052	4,16E-04
ACS	0,028	0,350	0,022
JCSS	0,483	0,681	0,048
VAP	0,209	1,035	0,030
média	0,216	0,491	0,031
mediana	0,165	0,611	0,030
DP	0,249	0,352	0,025

Tabela 7 – Parâmetros cinéticos de Fase 2: Grupo RNS

Paciente	δ (horas ⁻¹)	λ_1 (horas ⁻¹)	λ_2 (horas ⁻¹)
RA	0,014	0,087	6,72E-03
ESV	39,025	39,025	0,058
FCDC	0,257	0,258	0,060
PRCF	0,012	1,345	3,36E-03
LHN	942,313	942,327	0,062
CM	5,35E-03	0,066	3,95E-03
VR	3,19E-03	0,120	1,73E-03
MA	1,14E-03	0,081	9,56E-04
IH	0,011	0,129	7,16E-03
média	109,071	109,271	0,023
mediana	0,012	0,129	0,007
DP	312,731	312,659	0,028

Tabela 8 - Parâmetros cinéticos de Fase 2: Grupo NR

Paciente	δ (horas ⁻¹)	λ_1 (horas ⁻¹)	λ_2 (horas ⁻¹)
ALG	0,083	2,990	2,91E-03
JAPS	1,92E-03	0,286	9,72E-04
média	0,042	1,638	0,002
mediana	0,042	1,638	0,002
DP	0,057	1,912	0,001

Tabela 9 - Meia-vida, produção e eliminação viral - Grupo RVS

Paciente	$t_{1/2}^*$ (horas)	$t_{1/2}$ (horas)	P (kg)	EV (UI/ml)	PV (IU/ml)
MMF	4,201	1,389	70	1,11E+08	1,58E+06
EJC	1,105	10,830	66	3,47E+07	5,25E+05
AS	825,765	8,453	60	3,01E+08	5,02E+06
CF	1622,915	13,330	76	8,59E+06	1,13E+05
ACS	24,755	2,015	52	2,41E+08	4,63E+06
JCSS	1,435	2,818	86	5,59E+08	6,49E+06
VAP	3,316	0,810	67	6,91E+07	1,03E+06
média	354,785	5,664	---	1,89E+08	2,77E+06
mediana	4,201	2,818		1,11E+08	1,58E+06
DP	637,087	5,107		1,95E+08	2,55E+06

$t_{1/2}^*$: meia vida das células infectadas; $t_{1/2}$: meia vida do vírus; EV : eliminação viral/dia; PV : produção viral/dia.

Tabela 10 - Meia-vida, produção e eliminação viral - Grupo RNS

Paciente	$t^*_{1/2}$ (horas)	$t_{1/2}$ (horas)	P (kg)	EV (UI/ml)	PV (IU/ml)
RA	49,511	8,664	69	3,26E+07	4,72E+05
ESV	0,018	11,951	71	6,27E+07	8,83E+05
FCDC	2,697	11,363	58	2,29E+08	3,94E+06
PRCF	57,762	0,519	65	3,41E+09	5,25E+07
LHN	0,001	9,120	54	1,20E+08	2,23E+06
CM	129,560	10,664	76	2,58E+07	3,40E+05
VR	217,560	5,825	60	1,83E+07	3,05E+05
MA	608,558	8,557	89	1,03E+08	1,16E+06
IH	63,013	5,545	91	5,15E+07	5,66E+05
média	125,409	8,023	---	4,50E+08	6,93E+06
mediana	57,762	8,664		6,27E+07	8,83E+05
DP	194,512	3,584		1,11E+09	1,71E+07

$t^*_{1/2}$: meia vida das células infectadas; $t_{1/2}$: meia vida do vírus; EV : eliminação viral/dia; PV : produção viral/dia.

Tabela 11 - Meia-vida, produção e eliminação viral - Grupo NR

Paciente	$t^*_{1/2}$ (horas)	$t_{1/2}$ (horas)	P (kg)	EV (UI/ml)	PV (IU/ml)
ALG	8,351	19,254	54 62	7,00E+09	1,30E+08
JAPS	361,768	1,362		6,68E+08	1,08E+07
média	185,060	10,308	---	3,83E+09	7,02E+07
mediana	185,060	10,308		3,83E+09	7,02E+07
DP	249,903	12,652		4,48E+09	8,41E+07

$t^*_{1/2}$: meia vida das células infectadas; $t_{1/2}$: meia vida do vírus; EV : eliminação viral/dia; PV : produção viral/dia.

Tabela 12 – Tempo estimado para VHC 0,1 UI/ml - Grupo RVS

Paciente	τ (horas)	τ (dias)	τ (semanas)
MMF	276,624	11,526	1,647
EJC	253,158	10,548	1,507
AS	19070,000	794,583	113,512
CF	25740,000	1072,500	153,214
ACS	667,369	27,807	3,972
JCSS	354,640	14,777	2,111
VAP	453,082	18,878	2,697
média	6687,839	278,660	39,809
mediana	453,082	18,878	2,697
DP	10909,012	454,542	64,935

Tabela 13 - Tempo estimado para VHC 0,1 UI/ml - Grupo RNS

Paciente	τ (horas)	τ (dias)	τ (semanas)
RA	2196,000	91,500	13,071
ESV	*	*	*
FCDC	295,669	12,320	1,760
PRCF	5018,000	209,083	29,869
LHN	*	*	*
CM	3522,000	146,750	20,964
VR	7926,000	330,250	47,179
MA	15030,000	626,250	89,464
IH	1964,000	81,833	11,690
média	5135,953	213,998	30,571
mediana	3522,000	146,750	20,964
DP	5007,132	208,631	29,804

Tabela 14 - Tempo estimado para VHC 0,1 UI/ml - Grupo NR

Paciente	τ (horas)	τ (dias)	τ (semanas)
ALG	5945,000	247,708	35,387
JAPS	*	*	*
média	5945,000	247,708	35,387
mediana DP	5945,000	247,708	35,387
	-	-	-

Tabela 37 - Resultado dos testes exatos de Fisher e Odds ratio entre RVS e as medidas de interesse

Variável	Categoria	Odds Ratio	IC (95%)		p-value
			Inferior	Superior	
Sexo	Masculino	1.00			1.000
	Feminino	1.00	0.08	13.37	
Faixa etária	< 40 anos	1.00			1.000
	>= 40 anos	0.75	0.12	4.66	
Raça	Não branca	1.00			1.000
	Branca	1.00	0.16	6.26	
Peso	< 75 Kg	1.00			1.000
	>= 75 Kg	1.00	0.13	7.45	
CD4	< 350	1.00			1.000
	>= 350	-	-	-	
Cirrose	Não	1.00			0.533
	Sim	-	-	-	
Genótipo	Tipo I	1.00			0.040
	Não tipo I	9.17	1.15	73.24	
VHC	< 850000	1.00			1.000
	>= 850000	1.00	0.16	6.26	

Pela análise da tabela 37, tem-se que existe uma tendência de que pessoas com genótipo não tipo I possuem maior porcentagem de RVS ($p = 0,040$). As demais medidas não mostram associação com RVS, inclusive adesão a Ribavirina (não representada na tabela).

Tabela 46 - Resultado dos testes exatos de Fisher e Odds ratio entre RVP e as medidas de interesse

Variável	Categoria	Odds Ratio	IC (95%)		p-value
			Inferior	Superior	
Sexo	Masculino	1.00			0.534
	Feminino	-	-	-	
Faixa etária	< 40 anos	1.00			1.000
	>= 40 anos	1.33	0.23	7.74	
Raça	Não branca	1.00			1.000
	Branca	0.94	0.16	5.46	
Peso	< 75 Kg	1.00			0.626
	>= 75 Kg	3.00	0.29	30.92	
CD4	< 350	1.00			1.000
	>= 350	-	-	-	
Cirrose	Não	1.00			0.534
	Sim	-	-	-	
Genótipo	Tipo I	1.00			0.020
	Não tipo I	-	-	-	
VHC	< 850000	1.00			0.659
	>= 850000	0.50	0.08	3.29	

Pelo resultado do teste da Tabela 46 e pela Tabela 44 (anexo), tem-se que pessoas com genótipo não tipo I possuem maior porcentagem de RVP ($p = 0,020$).

Tabela 47 - Comparação dos parâmetros cinéticos selecionados e RVS

Variável	Qui-quadrado	gl	p
V_0 (IU/ml)	3,061	2	0,216
ε	3,137	2	0,208
c (hour ⁻¹)	3,689	2	0,158
t_0 (hour)	0,986	2	0,611
δ (hour ⁻¹)	0,321	2	0,852
λ_1 (hour ⁻¹)	0,722	2	0,697
λ_2 (hour ⁻¹)	1,600	2	0,449
$t_{1/2}$ células(hour)	0,321	2	0,852
$t_{1/2}$ vírions(hour)	0,742	2	0,690
Clearance rate (IU/ml)	4,768	2	0,092
Produção (virions/d)	4,768	2	0,092
τ (days)	1,286	2	0,526

Pela análise da tabela 47, tem-se que não há diferença estatisticamente significativa entre os desfechos virológicos para nenhum dos parâmetros cinéticos observados ($p > 0,05$).

Tabela 48 - Comparação dos parâmetros cinéticos entre as raças

Variável	Mann-Whitney	Z	p
V_0 (IU/ml)	27,0	-1,04	0,328
ε	35,0	-0,32	0,791
c (hour ⁻¹)	36,0	-0,23	0,860
t_0 (hour)	36,0	-0,23	0,860
δ (hour ⁻¹)	34,0	-0,41	0,724
λ_1 (hour ⁻¹)	33,0	-0,50	0,659
λ_2 (hour ⁻¹)	35,5	-0,27	0,791
$t_{1/2}$ (hour)	34,0	-0,41	0,724
$t_{1/2}$ (hour)	27,0	-1,04	0,328
Clearance rate (IU/ml)	27,0	-1,04	0,328
Produção (virions/d)	27,0	-1,04	0,328
τ (days)	23,0	-0,25	0,859

Pela análise da tabela 48, tem-se que não há diferença estatisticamente significativa dos parâmetros entre brancos e negros ($p > 0,05$).

Tabela 49 - Comparação dos parâmetros cinéticos entre genótipos

Variável	Mann-Whitney	Z	p
V_0 (IU/ml)	14,0	-2,31	0,021
ε	28,0	-1,07	0,315
c (hour ⁻¹)	35,0	-0,44	0,696
t_0 (hour)	38,0	-0,18	0,897
δ (hour ⁻¹)	37,0	-0,27	0,829
λ_1 (hour ⁻¹)	39,0	-0,09	0,965
λ_2 (hour ⁻¹)	32,5	-0,67	0,515
$t_{1/2}$ (hour)	37,0	-0,27	0,829
$t_{1/2}$ (hour)	39,0	-0,09	0,965
Clearance rate (IU/ml)	23,0	-1,51	0,146
Produção (virions/d)	23,0	-1,51	0,146
τ (days)	21,0	-0,81	0,463

Pela análise da tabela 49, tem-se que apenas o V_0 é estatisticamente diferente entre os genótipos ($p = 0,021$), sendo o genótipo I com valores superiores aos valores do genótipo 3.

Tabela 50 - Comparação dos parâmetros cinéticos para as categorias de desfechos virológico e raça

Variável	Qui-quadrado	gl	p
V_0 (IU/ml)	4,599	5	0,467
ε	5,839	5	0,322
c (hour ⁻¹)	5,292	5	0,381
t_0 (hour)	3,096	5	0,685
δ (hour ⁻¹)	2,307	5	0,805
λ_1 (hour ⁻¹)	2,222	5	0,818
λ_2 (hour ⁻¹)	3,102	5	0,684
$t_{1/2}$ (hour)	2,307	5	0,805
$t_{1/2}$ (hour)	6,099	5	0,297
Clearance rate (IU/ml)	6,424	5	0,267
Produção (virions/d)	6,424	5	0,267
τ (days)	1,782	4	0,776

A Tabela 50 evidencia que quando estratificados os desfechos por raça, não existe diferença estatisticamente significativa nos parâmetros cinéticos ($p > 0,05$).

Tabela 51 - Comparação dos parâmetros cinéticos para as categorias de desfechos virológico e genótipo

Variável	Qui-quadrado	gl	p
V_0 (IU/ml)	7,972	4	0,093
ε	3,925	4	0,416
c (hour ⁻¹)	3,772	4	0,438
t_0 (hour)	4,335	4	0,363
δ (hour ⁻¹)	0,572	4	0,966
λ_1 (hour ⁻¹)	0,782	4	0,941
λ_2 (hour ⁻¹)	2,333	4	0,675
$t_{1/2}$ (hour)	0,572	4	0,966
$t_{1/2}$ (hour)	0,853	4	0,931
Clearance rate (IU/ml)	7,344	4	0,119
Produção (virions/d)	7,344	4	0,119
τ (days)	2,200	4	0,699

A Tabela 51 evidencia que quando estratificados os desfechos por genótipo, não existe diferença estatisticamente significativa nos parâmetros cinéticos ($p > 0,05$), embora quando não estratificado esta diferença no parâmetro V_0 tenha sido observada (Tabela 49).

Tabela 52 - Resultado da regressão logística para verificar conjuntamente a influência dos parâmetros cinéticos selecionados no desfecho virológico

Parâmetro	Estimativa	Erro Padrão	Estatística de teste	GL	p
ε	0,01	2,98	0,000	1	0,996
δ	2403,15	3450,79	0,485	1	0,486
c	2403,75	3451,56	0,485	1	0,486
λ_1	-2402,95	3450,79	0,485	1	0,486
λ_2	-2444,48	3446,10	0,503	1	0,478

Pela análise da tabela 52, tem-se que nenhum dos parâmetros cinéticos selecionados conjuntamente consegue diferenciar os dois desfechos virológicos propostos (resposta sustentada e não sustentada ou não respondedor) ($p > 0,05$).

Nas tabelas 53 e 54, abaixo, apresentamos os resultados de nossa análise em relação aos dados basais de cada paciente e seus respectivos desfechos virológicos nas 12 primeiras semanas de terapia (HIV e VHC) e ao término do seguimento (apenas para o VHC).

Tabela 53 - Evolução das quantificações de HIV em relação ao CD4 basal e presença de terapia anti-retroviral (ART)

RNA HIV (cp/ml ou detecção)																						
Paciente	CD4 basal	ART	zero	04 horas	08 horas	12 horas	18 horas	24 horas	30 horas	36 horas	42 horas	48 horas	72 horas	dia 04	dia 07	dia 08	dia 15	dia 22	dia 29	dia 43	dia 57	semana 12
MMF	700	sim	245	166	191	127	169	242	110	190	125	179	9	53	TND	21	7	18	TND	TND	TND	TND
EJC	533	não	405	607	666	551	105	144	133	93	123	145	28	TND	TND	4	6	TND	TND	TND	TND	TND
CF	653	sim	1850	14600	6080	4700	2910	1910	2640	1940	1640	1310	901	484	156	91	421	59	18	313	3610	2420
AS	611	sim	325	201	412	354	174	152	101	140	196	171	142	148	32	13	31	51	34	57	38	28
JCSS	400	não	9930	12200	Ñ realiz	11200	9470	10500	5970	4490	5310	4390	3210	952	710	355	28	43	73	134	11	137
VAP	441	não	20	85	108	19	20	TND	24	TND	10	30	TND	9	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND
ACS	455	sim	1590	1740	2200	2460	1830	2350	946	955	1800	854	583	773	596	402	328	399	796	1160	901	168
IH	327	sim	TND	TND	TND	TND	TND	TND	ñ realiz.	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND
ESV	664	sim	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND
LAS	519	não	3920	4530	5490	6660	553	614	91	1220	2600	373	1310	235	TND	TND	196	18	149	41	38	57
CM	587	sim	170	50	115	43	116	33	156	116	199	124	33	21	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND
VR	612	sim	9	TND	11	TND	4	TND	50	TND	16	6	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND
MA	436	sim	TND	9	TND	TND	8	TND	TND	TND	40	TND	TND	TND	TND	8	TND	TND	TND	TND	9	TND
PRCF	672	sim	TND	TND	TND	TND	TND	17	TND	TND	TND	TND	TND	33	TND	TND	TND	TND	TND	7	TND	TND
RA	690	não	1630	1210	2040	1190	879	905	491	297	539	348	270	217	36	69	35	57	84	394	659	2040
LHN	430	sim	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND
FCDC	929	sim	792	887	1060	1800	950	818	427	455	334	553	158	123	136	63	10	TND	TND	TND	TND	TND
SRS	579	sim	21	36	20	32	21	TND	TND	41	22	10	29	27	ñ realiz.	9	TND	TND	13	TND	TND	TND
ALG	418	sim	7350	5000	3810	5380	3460	4430	2640	2170	2520	3040	2950	1480	1550	1010	856	3790	ñ realiz.	3050	2840	2400
JAPS	739	sim	TND	TND	TND	TND	TND	TND	15	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND
JSR	956	sim	TND	28	TND	TND	TND	TND	TND	15	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	21	TND
AMTJ	486	não	249	273	400	591	389	225	293	339	210	423	248	509	361	185	521	582	86	301	6010	10100
ASS	524	não	TND	TND	5	8	TND	TND	10	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND
EAC	455	sim	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND
CABF	424	sim	9	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	TND	7	TND	TND	TND	16
WJBD	658	não	343	304	194	260	174	344	ñ realiz.	78	58	40	57	79	11	TND	TND	TND	TND	TND	TND	ñ realiz.

TND: Targeted Not Detected

Tabela 54 - Evolução das quantificações de VHC e desfechos

RNA VHC (UI/ml ou detecção)																						
Paciente	zero	04 horas	08 horas	12 horas	18 horas	24 horas	30 horas	36 horas	42 horas	48 horas	72 horas	dia 04	dia 07	dia 08	dia 15	dia 22	dia 29	dia 43	dia 57	semana 12	Semana 48 (RFT)	Semana 72 (RVS)
MMF	1.466.500	368.000	661.000	213.000	71.600	33.400	29.300	21.100	25.800	19.300	19.000	19.400	06.100	01.090	00.393	00.017	<1	TND	TND	TND	não detectado	não detectado
EJC	618.000	441.000	424.000	700.000	98.300	30.200	83.400	16.600	26.200	28.700	45.100	50.600	29.000	03.550	00.654	00.255	00.005	00.003	<1	TND	não detectado	não detectado
CF	174.000	210.000	217.000	268.000	74.000	22.900	08.220	03.700	04.430	03.040	06.470	14.200	08.130	06.780	02.690	00.344	00.103	00.010	00.010	TND	não detectado	não detectado
AS	10.500.000	7.350.000	4.660.000	5.750.000	2.990.000	1.400.000	929.000	777.000	357.000	646.000	1.180.000	1.360.000	819.000	861.000	166.000	87.400	62.600	04.810	02.600	00.228	não detectado	não detectado
JCSS	1.970.000	4.500.000	4.720.000	4.370.000	1.270.000	217.000	67.500	64.400	129.000	118.000	168.000	155.000	57.900	33.700	01.900	00.295	00.040	00.003	<1	TND	não detectado	não detectado
VAP	91.900	136.000	515.000	04.270	04.280	05.490	05.570	00.721	00.501	01.700	08.660	02.780	03.670	01.430	00.030	00.062	00.011	TND	TND	TND	não detectado	não detectado
ACS	1.010.000	447.000	174.000	241.000	234.000	45.000	46.400	159.000	62.900	78.000	132.000	27.600	45.400	17.200	01.500	00.079	<1	TND	TND	TND	não detectado	não detectado
IH	378.000	539.000	193.000	115.000	205.000	19.800	16.600	62.400	50.600	57.400	55.000	143.000	48.700	39.500	16.400	08.240	00.453	00.045	00.032	TND	não detectado	detectado
ESV	1.260.000	1.980.000	1.530.000	946.000	615.000	75.600	47.200	19.200	15.900	10.200	33.200	31.800	20.800	05.600	00.268	<1	TND	TND	TND	TND	não detectado	detectado
LAS	210.000	217.000	170.000	109.000	181.000	60.100	64.200	67.100	62.100	81.700	147.000	113.000	73.100	84.900	32.600	21.500	08.800	02.880	02.860	00.533	não detectado	detectado
CM	471.000	434.000	425.000	478.000	246.000	154.000	58.900	59.000	44.200	86.600	212.000	158.000	71.500	04.500	12.400	03.550	01.060	00.260	00.032	TND	não detectado	detectado
VR	195.000	127.000	193.000	106.000	77.500	54.900	95.400	106.000	44.600	66.000	114.000	110.000	82.000	67.900	82.700	13.500	07.690	03.760	02.210	00.214	não detectado	detectado
MA	1.220.000	1.670.000	1.210.000	1.010.000	257.000	76.600	19.700	19.600	11.200	234.000	906.000	105.000	87.600	117.000	200.000	171.000	102.000	01.000	01.300	<1	não detectado	detectado
PRCF	2.960.000	2.020.000	1.950.000	2.620.000	3.790.000	1.370.000	1.800.000	1.260.000	1.110.000	2.040.000	1.380.000	1.340.000	1.590.000	1.740.000	1.920.000	1.370.000	644.000	567.000	415.000	111.000	não detectado	detectado
RA	471.000	584.000	618.000	424.000	145.000	224.000	216.000	81.300	132.000	129.000	239.000	167.000	105.000	49.000	18.700	17.900	37.200	09.710	14.500	92.700	não detectado	detectado
LHN	2.500.000	2.100.000	3.850.000	805.000	884.000	595.000	201.000	116.000	108.000	167.000	93.200	131.000	165.000	227.000	115.000	51.500	67.400	12.100	08.070	00.430	não detectado	detectado
FCDC	4.880.000	4.770.000	2.960.000	536.000	4.680.000	544.000	271.000	218.000	352.000	260.000	276.000	730.000	2.070.000	782.000	487.000	208.000	188.000	67.900	67.800	04.130	não detectado	detectado
SRS	3.570.000	3.730.000	3.030.000	2.640.000	4.320.000	4.690.000	6.320.000	5.500.000	6.100.000	3.610.000	3.220.000	4.580.000	3.620.000	5.080.000	2.000.000	2.390.000	2.840.000	3.790.000	3.760.000	2.470.000	não detectado	detectado
ALG	3.460.000	2.510.000	1.860.000	3.040.000	2.900.000	3.770.000	3.130.000	6.440.000	2.960.000	2.330.000	1.450.000	1.380.000	3.080.000	1.280.000	1.440.000	383.000	175.000	127.000	298.000	917.000	detectado	detectado
JAPS	6.410.000	3.770.000	866.000	1.510.000	1.730.000	1.600.000	1.830.000	779.000	1.480.000	1.460.000	983.000	4.060.000	4.860.000	947.000	469.000	553.000	417.000	84.700	31.500	05.230	detectado	detectado
JSR	1.370.000	1.140.000	1.130.000	586.000	361.000	420.000	355.000	548.000	625.000	1.220.000	1.260.000	1.920.000	1.420.000	776.000	1.160.000	1.610.000	695.000	860.000	520.000	254.000	detectado	detectado
AMTJ	2.460.000	2.470.000	1.850.000	1.240.000	341.000	299.000	218.000	52.500	53.600	171.000	67.600	76.700	56.500	07.870	01.530	02.890	01.300	00.195	00.147	00.769	ñ realiz.	ñ realiz.
ASS	3.040.000	5.700.000	ñ realiz.	2.020.000	1.550.000	168.000	19.000	16.600	62.600	407.000	304.000	729.000	214.000	294.000	25.800	07.770	04.980	00.938	00.280	TND	ñ realiz.	ñ realiz.
EAC	01.380	02.250	02.810	01.950	01.400	00.501	00.326	01.100	00.357	00.790	00.558	00.390	00.162	00.164	TND	TND	TND	TND	TND	<1	ñ realiz.	ñ realiz.
CABF	1.030.000	573.000	664.000	411.000	405.000	238.000	113.000	23.000	104.000	63.200	26.100	11.400	16.900	03.230	02.710	01.030	01.140	00.052	00.032	TND	ñ realiz.	ñ realiz.
WJBD	1.310.000	1.410.000	1.960.000	1.250.000	1.080.000	275.000	45.800	67.000	81.600	65.900	327.000	81.300	132.000	47.300	04.500	00.773	00.928	00.239	00.251	ñ realiz.	ñ realiz.	ñ realiz.

Legenda: Resposta Virológica Precoce
Resposta Virológica Sustentada
Resposta ao Fim do Tratamento
Não Respondedor

TND: Target Not Detected

Tabela 55 - Dados clínicos e demográficos basais e adesão a Ribavirina

Paciente	CD4 basal	ART	Sexo	Idade	Raça	Peso	Cirrose	Genótipo	Aderência a Ribavirina
MMF	700	sim	masculino	50	branco	69,8 Kg	não	3a	boa
EJC	533	não	masculino	34	branco	65,7 Kg	não	3a	boa
CF	653	sim	masculino	40	branco	76 kg	não	3a	boa
AS	611	sim	masculino	56	negro	60 kg	sim	1b	boa
JCSS	400	não	masculino	37	negro	86 kg	não	1	boa
VAP	441	não	masculino	32	negro	67 kg	não	3a	boa
ACS	455	sim	feminino	34	branco	52 kg	não	3a	boa
IH	327	sim	masculino	42	branco	91,55 kg	sim	3a	boa
ESV	664	sim	masculino	35	branco	71 kg	não	3a	regular
LAS	519	não	feminino	49	negro	65 kg	não	1b	regular
CM	587	sim	feminino	39	branco	75,60 kg	não	1a	regular
VR	612	sim	masculino	43	negro	59,65 kg	sim	1b	regular
MA	436	sim	masculino	39	branco	88,5 kg	não	3a	boa
PRCF	672	sim	masculino	42	branco	65 kg	não	1	boa
RA	690	não	masculino	35	branco	69 kg	não	1	boa
LHN	430	sim	masculino	38	negro	54 kg	não	1	boa
FCDC	929	sim	masculino	47	negro	58 kg	não	1a	boa
SRS	579	sim	masculino	39	branco	79 kg	não	1a	boa
ALG	418	sim	masculino	48	branco	54 kg	não	1a	ruim
JAPS	739	sim	masculino	54	negro	62 kg	não	1b	boa
JSR	956	sim	masculino	36	negro	64,55 kg	não	1a	boa
AMTJ	486	não	masculino	38	branco	71 kg	não	1	excluído
ASS	524	não	masculino	47	negro	77,7 kg	não	1a	excluído
EAC	455	sim	masculino	39	negro	67 kg	sim	3a	excluído
CABF	424	sim	masculino	49	branco	71 kg	não	3a	excluído
WJBD	658	não	masculino	34	negro	65 kg	não	3a	excluído

Assim, apresentamos na Tabela 56 de forma resumida a nossa casuística.

Tabela 56 - Resumo dos dados basais dos pacientes acompanhados

Pacientes	26		
Gênero	Feminino: 03 (11,54%)	Masculino: 23 (88,46%)	
Média das idades (anos)	41,38		(32 – 56)
Média dos pesos (Kg)	68,7		(52 – 91,5)
Raça	Branco: 14 (53,84%)	Negro: 12 (46,15%)	
Média do CD4 (mm ³)	573,38		(327 – 956)
ART	Sim: 18 (69,23%)	Não: 08 (30,76%)	
Média HIV (cp/ml)	1109		(< 50 – 9930)
Média VHC (UI/ml)	2.039.626		(1380-10.500.000)
Mediana VHC (UI/ml)	1.285.000		
Genótipos	1: 15 (57,69%)	3: 11 (42,30%)	
Cirróticos	Sim: 03 (11,54%)	Não: 23 (88,46%)	

Em relação à distribuição de nossa casuística, tivemos uma média das idades de 41, 38 anos com um predomínio de homens, e um equilíbrio entre a distribuição racial, com 14 brancos e 12 negros – não sendo consideradas as miscigenações em função de sua pobre compreensão fora de nosso país. Assim, utilizamos apenas a definição negro ou branco, para categorizar etnia. Houve um predomínio de exposição parenteral ao VHC, sendo 17 pacientes (65,38 %) ex-usuários de drogas injetáveis – dois deles também homossexuais masculinos – e cinco (19,26 %), homossexuais masculinos. Dois pacientes (7,69%) do sexo feminino referiram parceiros ex-usuários de drogas. Finalmente, dois pacientes (7,69%) possuíam

antecedente de relações heterossexuais e sem passado de uso de drogas ambos, porém, com uma possível exposição à transfusão de sangue, na infância para um, e após trauma para outro. O peso médio foi de 68,7 Kg com limite superior de 91,5 Kg. O valor do peso foi útil para o ajuste da dose de Ribavirina, uma vez que o tipo de Interferon Peguilado utilizado tem sua dose fixa, independentemente do peso.

Considerando os critérios de inclusão, como esperado, tivemos pacientes com bom controle do HIV, o que se refletiu em cargas virais baixas – média de 1109 cp/ml. A contagem de linfócitos CD4 também se mostrou elevada, em média de 573 células/ml. Sessenta e nove por cento dos pacientes estavam em uso de terapia anti-retroviral durante o período do estudo. Em relação à Hepatite C, nossos pacientes apresentaram doença bem controlada, com apenas três cirróticos (11,5 %), no entanto, a mediana da carga viral de VHC basal mostrou-se elevada, sendo de 1.285.000 UI/ml. Em relação ao genótipo de VHC houve um ligeiro predomínio do Genótipo 1, com 15 pacientes (57,69%) contra 11 (42,30%) infectados pelo Genótipo 3.

A despeito de uma excelente adesão ao protocolo de coleta de amostras de sangue para quantificação do VHC e HIV, para a maioria dos pacientes a conduta médica relacionada ao HIV foi orientada pelos Serviços dos quais se originavam, a maior parte deles da cidade de São Paulo, alguns do litoral de São Paulo e um de Goiânia. A coleta de exames de rotina foi feita em local distinto da coleta para os exames virológicos, acarretando assim a opção para muitos de coletar o sangue em nosso laboratório, retirar a medicação e desprezar algumas coletas no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FMUSP. Em função disso, não foi possível construir uma curva paralela da evolução das transaminases ao longo e após a terapia.

Em relação aos casos de perda de seguimento tivemos três pacientes que saíram por motivo não relacionado à Saúde. Dois deles solicitaram exclusão por motivos profissionais e outro foi excluído em função de seu encarceramento por motivos criminais. Um quarto paciente desenvolveu uma Infecção Oportunista, Neurotoxoplasmose, e foi então excluído, após o controle agudo do quadro, não sendo possível à equipe do Estudo voltar a contatá-lo, a despeito de inúmeras tentativas. Finalmente, um paciente faleceu durante o seguimento, não sendo, pelas informações obtidas, o óbito decorrente de causa diretamente associada ao Estudo – faleceu durante os feriados de fim de ano no Litoral Sul do Estado de São Paulo. Apesar de solicitado, não foi enviada à equipe do Estudo o Atestado de Óbito do mesmo. As informações que detemos foram prestadas por familiares e na última visita clínica, antes do óbito, o paciente encontrava-se bem, inclusive com bom potencial de evolução para resposta virológica.

A análise da cinética do VHC será apresentada em grupos de acordo com o desfecho do caso nas tabelas de 57(que serve de base às demais) a 61. Assim temos os seguintes grupos:

- 1: Respondedores (células verdes)
2. Recidivantes (células sem cor)
3. Não Respondedores (células vermelhas)
4. Perda de Seguimento (células amarelas)

Tabela 57 - Parâmetros cinéticos calculados - todos os grupos (valores em vermelho foram descartados: não ajuste dos dados ao modelo)

Pacientes	V ₀ (IU/ml)	ε	c (hora ⁻¹)	t ₀ (hora)	t > t ₀	δ (hora ⁻¹)	λ ₁ (hora ⁻¹)	λ ₂ (hora ⁻¹)	t _{1/2} (hora)	t _{1/2} (hora)	Peso (kg)	CV Basal HCV (IU/ml)	Taxa de Eliminação (IU/ml)	τ (hora) - 1st Fase	τ (dias)	τ (horas) - Fase 2	τ (dias)	τ (semanas)
MMF	2,38E+05	0,390	0,499	5,322	8	0,165	0,611	0,053	4,201	1,389	70	1,47E+06	1,11E+08	-	-	276,624	11,526	1,647
EJC	6,14E+05	0,969	0,064	1,208	4	0,627	0,629	0,062	1,105	10,830	66	6,18E+05	3,47E+07	-	-	253,158	10,548	1,507
AS	4,58E+06	0,934	0,082	10,385	12	8,39E-04	0,082	7,84E-04	825,765	8,453	60	1,05E+07	3,01E+08	-	-	19070,000	794,583	113,512
CF	1,63E+05	0,973	0,052	8,023	12	4,27E-04	0,052	4,16E-04	1622,915	13,330	76	1,74E+05	8,59E+06	-	-	25740,000	1072,500	153,214
ACS	1,01E+06	0,792	0,344	0,027	4	0,028	0,350	0,022	24,755	2,015	52	1,01E+06	2,41E+08	-	-	667,369	27,807	3,972
JCSS	1,98E+06	0,276	0,246	5,324	8	0,483	0,681	0,048	1,435	2,818	86	1,97E+06	5,59E+08	-	-	354,640	14,777	2,111
VAP	9,01E+04	0,173	0,856	0,249	4	0,209	1,035	0,030	3,316	0,810	67	9,19E+04	6,91E+07	-	-	453,082	18,878	2,697
Média	1,24E+06	0,644	0,306	4,363	-	0,216	0,491	0,031	354,785	5,664	-	2,26E+06	1,89E+08	-	-	6687,839	278,660	39,809
Mediana	8,11E+05	0,792	0,246	5,322	-	0,165	0,611	0,030	4,201	2,818	-	1,01E+06	1,11E+08	-	-	453,082	18,878	2,697
SD	1,61E+06	0,352	0,294	4,025	-	0,249	0,352	0,025	637,087	5,107	-	3,69E+06	1,95E+08	-	-	10909,012	454,542	64,935
RA	4,42E+05	0,524	0,080	6,433	8	0,014	0,087	6,72E-03	49,511	8,664	69	4,71E+05	3,26E+07	-	-	2196,000	91,500	13,071
SRS	9,70E+05	-4,216	0,093	-3,638	0	-1,27E-04	0,092	5,39E-04	-5462,153	7,453	79	3,57E+06	9,52E+07	-5,927	-0,247	-5,927	-0,247	-0,035
ESV	1,14E+06	0,992	0,058	7,969	8	39,025	39,025	0,058	0,018	11,951	71	1,26E+06	6,27E+07	-	-	-	-	-
FCDC	4,84E+06	0,993	0,061	0,964	4	0,257	0,258	0,060	2,697	11,363	58	4,88E+06	2,29E+08	-	-	295,669	12,320	1,760
PRCF	2,94E+06	0,282	1,336	0,026	4	0,012	1,345	3,36E-03	57,762	0,519	65	2,96E+06	3,41E+09	-	-	5018,000	209,083	29,869
LHN	2,20E+06	0,820	0,076	4,867	8	942,313	942,327	0,062	0,001	9,120	54	2,50E+06	1,20E+08	-	-	-	-	-
LAS	7,38E+05	0,318	-4324,000	-357,577	0	3,78E+06	3,78E+06	-1,38E-03	1,84E-07	-1,60E-04	65	2,10E+05	-2,77E+12	-	-	-	-	-
CM	3,91E+05	0,754	0,065	6,527	8	5,35E-03	0,066	3,95E-03	129,560	10,664	76	4,71E+05	2,58E+07	-	-	3522,000	146,750	20,964
VR	1,92E+05	0,549	0,119	0,275	4	3,19E-03	0,120	1,73E-03	217,560	5,825	60	1,95E+05	1,83E+07	-	-	7926,000	330,250	47,179
MA	1,07E+06	0,841	0,081	6,065	8	1,14E-03	0,081	9,56E-04	608,558	8,557	89	1,22E+06	1,03E+08	-	-	15030,000	626,250	89,464
IH	3,39E+05	0,671	0,125	3,605	4	0,011	0,129	7,16E-03	63,013	5,545	91	3,78E+05	5,15E+07	-	-	1964,000	81,833	11,690
Média	1,51E+06	0,714	0,222	4,081	-	109,071	109,271	0,023	125,409	8,023	-	1,65E+06	4,15E+08	-5,927	-0,247	5135,953	213,998	30,571
Mediana	1,07E+06	0,754	0,080	4,867	-	0,012	0,129	0,007	57,762	8,664	-	1,22E+06	7,90E+07	-5,927	-0,247	3522,000	146,750	20,964
SD	1,56E+06	0,233	0,418	3,001	-	312,731	312,659	0,028	194,512	3,584	-	1,60E+06	1,05E+09	-	-	5007,132	208,631	29,804
ALG	3,34E+06	0,036	2,910	0,246	4	0,083	2,990	2,91E-03	8,351	19,254	54	3,46E+06	7,00E+09	-	-	5945,000	247,708	35,387
JSR	1,37E+06	0,561	0,152	0,636	4	-1,49E-01	0,152	-8,35E-05	-4,658	1,236	65	1,37E+06	1,80E+08	-	-	16930,000	705,417	100,774
JAPS	2,83E+06	0,509	0,285	4,463	8	1,92E-03	0,286	9,72E-04	361,768	1,362	62	6,41E+06	6,68E+08	-	-	-	-	-
Média	2,51E+06	0,369	1,116	1,782	-	0,042	1,638	0,002	185,060	10,308	-	3,75E+06	2,62E+09	-	-	11437,500	476,563	68,080
Mediana	2,83E+06	0,509	0,285	0,636	-	0,042	1,638	0,002	185,060	10,308	-	3,46E+06	6,68E+08	-	-	11437,500	476,563	68,080
SD	1,02E+06	0,289	1,555	2,330	-	0,118	1,601	0,002	207,902	10,367	-	2,53E+06	3,81E+09	-	-	7767,568	323,649	46,236
EAC	1,83E+03	1,194	0,023	7,261	8	0,159	0,154	0,028	4,359	30,137	67	1,38E+03	3,77E+04	86,258	3,594	357,842	14,910	2,130
CABF	1,02E+06	0,653	0,187	-0,051	0	0,074	0,220	0,041	9,367	3,707	71	1,03E+06	1,81E+08	-	-	378,804	15,784	2,255
AMTJ	2,41E+06	1,034	0,071	2,090	4	0,034	0,069	0,036	20,387	9,763	71	2,46E+06	1,62E+08	50,186	2,091	66,807	2,784	0,398
ASS	2,96E+06	1,012	0,063	7,499	8	0,047	0,060	0,050	14,748	11,002	78	3,04E+06	1,95E+08	77,892	3,246	137,228	5,718	0,817
WJBD	1,20E+06	0,814	0,060	7,762	8	3,36E+06	3,36E+06	0,049	0,000	11,552	65	1,31E+06	6,26E+07	-	-	-	-	-
Média	1,20E+06	0,814	0,060	7,762	-	3,36E+06	3,36E+06	4,90E-02	2,07E-07	1,16E+01	-	1,57E+06	1,20E+08	71,445	2,977	235,170	9,799	1,400
Mediana	1,20E+06	0,814	0,060	7,762	-	3,36E+06	3,36E+06	4,90E-02	2,07E-07	1,16E+01	-	1,31E+06	1,62E+08	77,892	3,246	247,535	10,314	1,473
SD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,20E+06	8,47E+07	18,880	0,787	156,650	6,527	0,932

Etnia e genótipo foram as variáveis escolhidas como relevantes para análise em relação aos parâmetros cinéticos, uma vez que outros potenciais fatores (contagem de linfócitos $CD4^+$, grau de fibrose hepática, adesão à terapia, uso de anti-retrovirais, gênero, peso e carga viral basal de VHC) são semelhantes no grupo de pacientes estudados ou desprovidos de relevância na análise preliminar realizada. Destaque-se que a carga viral de HIV mostrou-se de pequena monta e estável para a maioria dos pacientes sendo assim, desconsiderada na análise e também para a cinética do HIV.

Entre os 18 pacientes, cujo ajuste ao modelo matemático e o seguimento integral foram obtidos, temos os parâmetros cinéticos representados abaixo.

Tabela 58 - Parâmetros cinéticos do VHC para pacientes com Genótipo 1

	V ₀ (UI/ml)	s	c (hora ⁻¹)	c (dia)	t ₀ (hora)	t > t ₀	δ (hora ⁻¹)	δ (dia)	λ ₁ (hora ⁻¹)	λ ₂ (hora ⁻¹)	t _{1/2} (hora)	t _{1/2} (hora)	Peso (kg)	CV Basal HCV (IU/ml)	Taxa de Eliminação (UI/ml)	Produção (virions/d)
AS	4,578E+06	0,934	0,082	1,968	10,385	12	0,001	0,020	0,082	0,001	825,765	8,453	60	1,05E+07	3,01E+08	5,02E+06
JCSS	1,976E+06	0,276	0,246	5,904	5,324	8	0,483	11,592	0,681	0,048	1,435	2,818	86	1,97E+06	5,59E+08	6,49E+06
Média	3,277E+06	0,605	0,164	3,936	7,855	10	0,242	5,806	0,382	0,024	413,600	5,635	73	6,24E+06	4,30E+08	5,75E+06
Mediana	3,277E+06	0,605	0,164	3,936	7,855	10	0,242	5,806	0,382	0,024	413,600	5,635	73	6,24E+06	4,30E+08	5,75E+06
RA	4,416E+05	0,524	0,080	1,920	6,433	8	0,014	0,336	0,087	0,007	49,511	8,664	69	4,71E+05	3,26E+07	4,72E+05
FCDC	4,836E+06	0,993	0,061	1,464	0,964	4	0,257	6,168	0,258	0,060	2,697	11,363	58	4,88E+06	2,29E+08	3,94E+06
PRCF	2,940E+06	0,282	1,336	32,064	0,026	4	0,012	0,288	1,345	0,003	57,762	0,519	65	2,96E+06	3,41E+09	5,25E+07
LHN	2,197E+06	0,820	0,076	1,824	4,867	8	942,313	22615,51 2	942,327	0,062	0,001	9,120	54	2,50E+06	1,20E+08	2,23E+06
CM	3,913E+05	0,754	0,065	1,560	6,527	8	0,005	0,128	0,066	0,004	129,560	10,664	76	4,71E+05	2,58E+07	3,40E+05
VR	1,920E+05	0,549	0,119	2,856	0,275	4	0,003	0,076	0,120	0,002	217,560	5,825	60	1,95E+05	1,83E+07	3,05E+05
Média	1,833E+06	0,654	0,290	6,948	3,182	6	157,101	3770,418	157,367	0,023	76,182	7,693	64	1,91E+06	6,39E+08	9,96E+06
Mediana	1,319E+06	0,652	0,078	1,872	2,916	6	0,013	0,312	0,189	0,005	53,636	8,892	63	1,49E+06	7,65E+07	1,35E+06
ALG	3,335E+06	0,036	2,910	69,840	0,246	4	0,083	1,992	2,990	0,003	8,351	19,254	54	3,46E+06	7,00E+09	1,30E+08
JAPS	2,828E+06	0,509	0,285	6,840	4,463	8	0,002	0,046	0,286	0,001	361,768	1,362	62	6,41E+06	6,68E+08	1,08E+07
Média	3,082E+06	0,273	1,598	38,340	2,355	6	0,042	1,019	1,638	0,002	185,060	10,308	58	4,94E+06	3,83E+09	7,02E+07
Mediana	3,082E+06	0,273	1,598	38,340	2,355	6	0,042	1,019	1,638	0,002	185,060	10,308	58	4,94E+06	3,83E+09	7,02E+07
Média GT1	2,371E+06	0,568	0,526	12,624	3,951	7	94,317	2263,616	94,824	0,019	165,441	7,804	64	3,38E+06	1,24E+09	2,12E+07
Mediana GT1	2,513E+06	0,537	0,101	2,412	4,665	8	0,013	0,312	0,272	0,004	53,636	8,559	61	2,73E+06	2,65E+08	4,48E+06

Tabela 59 - Parâmetros cinéticos do VHC para pacientes com Genótipo 3

	V_0 (UI/ml)	ε	c (hora ⁻¹)	c (dia)	t_0 (hora)	$t > t_0$	δ (hora ⁻¹)	δ (dia)	λ_1 (hora ⁻¹)	λ_2 (hora ⁻¹)	$t_{1/2}$ (hora)	$t_{1/2}$ (hora)	Peso (kg)	CV Basal HCV (IU/ml)	Taxa de Eliminação (UI/ml)	Produção (virions/d)
MMF	2,38E+05	0,390	0,499	11,976	5,322	8	0,165	3,96	0,611	0,053	4,201	1,389	70	1,47E+06	1,11E+08	1,58E+06
EJC	6,14E+05	0,969	0,064	1,536	1,208	4	0,627	15,048	0,629	0,062	1,105	10,830	66	6,18E+05	3,47E+07	5,25E+05
CF	1,63E+05	0,973	0,052	1,248	8,023	12	0,000	0,010	0,052	0,000	1622,915	13,330	76	1,74E+05	8,59E+06	1,13E+05
ACS	1,01E+06	0,792	0,344	8,256	0,027	4	0,028	0,672	0,350	0,022	24,755	2,015	52	1,01E+06	2,41E+08	4,63E+06
VAP	9,01E+04	0,173	0,856	20,544	0,249	4	0,209	5,016	1,035	0,030	3,316	0,810	67	9,19E+04	6,91E+07	1,03E+06
Média	4,23E+05	0,659	0,363	8,712	2,966	6	0,206	4,941	0,535	0,033	331,259	5,675	66	6,73E+05	9,28E+07	1,58E+06
Mediana	2,38E+05	0,792	0,344	8,256	1,208	4	0,165	3,960	0,611	0,030	4,201	2,015	67	6,18E+05	6,91E+07	1,03E+06
ESV	1,14E+06	0,992	0,058	1,392	7,969	8	39,025	936,600	39,025	0,058	0,018	11,951	71	1,26E+06	6,27E+07	8,83E+05
MA	1,07E+06	0,841	0,081	1,944	6,065	8	0,001	0,027	0,081	0,001	608,558	8,557	89	1,22E+06	1,03E+08	1,16E+06
IH	3,39E+05	0,671	0,125	3,000	3,605	4	0,011	0,264	0,129	0,007	63,013	5,545	91	3,78E+05	5,15E+07	5,66E+05
Média	8,50E+05	0,835	0,088	2,112	5,880	7	13,012	312,297	13,078	0,022	223,863	8,684	84	9,53E+05	7,25E+07	8,69E+05
Mediana	1,07E+06	0,841	0,081	1,944	6,065	8	0,011	0,264	0,129	0,007	63,013	8,557	89	1,22E+06	6,27E+07	8,83E+05
Média GT3	5,83E+05	0,725	0,260	6,237	4,059	7	5,008	120,200	5,239	0,029	290,985	6,803	73	7,78E+05	8,52E+07	1,31E+06
Mediana GT3	4,77E+05	0,817	0,103	2,472	4,464	6	0,097	2,316	0,481	0,026	14,478	7,051	71	8,14E+05	6,59E+07	9,57E+05

Tabela 60 - Parâmetros cinéticos do VHC para pacientes Brancos

Brancos	V_0 (UI/ml)	ϵ	c (hora ⁻¹)	c (dia)	t_0 (hora)	$t > t_0$	δ (hora ⁻¹)	δ (dia)	λ_1 (hora ⁻¹)	λ_2 (hora ⁻¹)	$t_{1/2}$ (hora)	$t_{1/2}$ (hora)	Peso (kg)	CV Basal HCV (UI/ml)	Taxa de Eliminação (UI/ml)	Produção (virions/d)
MMF	2,38E+05	0,390	0,499	11,976	5,322	8	0,165	3,960	0,611	0,053	4,201	1,389	70	1,47E+06	1,11E+08	1,58E+06
EJC	6,14E+05	0,969	0,064	1,536	1,208	4	0,627	15,048	0,629	0,062	1,105	10,830	66	6,18E+05	3,47E+07	5,25E+05
CF	1,63E+05	0,973	0,052	1,248	8,023	12	0,000	0,010	0,052	0,000	1622,915	13,330	76	1,74E+05	8,59E+06	1,13E+05
ACS	1,01E+06	0,792	0,344	8,256	0,027	4	0,028	0,672	0,350	0,022	24,755	2,015	52	1,01E+06	2,41E+08	4,63E+06
Média	5,06E+05	0,781	0,240	5,754	3,645	7	0,205	4,923	0,411	0,034	413,244	6,891	66	8,18E+05	9,87E+07	1,71E+06
Mediana	4,26E+05	0,881	0,204	4,896	3,265	6	0,097	2,316	0,481	0,038	14,478	6,423	68	8,14E+05	7,27E+07	1,05E+06
IH	3,39E+05	0,671	0,125	3,000	3,605	4	0,011	0,264	0,129	0,007	63,013	5,545	91	3,78E+05	5,15E+07	5,66E+05
ESV	1,14E+06	0,992	0,058	1,392	7,969	8	39,025	936,600	39,025	0,058	0,018	11,951	71	1,26E+06	6,27E+07	8,83E+05
CM	3,91E+05	0,754	0,065	1,560	6,527	8	0,005	0,128	0,066	0,004	129,560	10,664	76	4,71E+05	2,58E+07	3,40E+05
MA	1,07E+06	0,841	0,081	1,944	6,065	8	0,001	0,027	0,081	0,001	608,558	8,557	89	1,22E+06	1,03E+08	1,16E+06
PRCF	2,94E+06	0,282	1,336	32,064	0,026	4	0,012	0,288	1,345	0,003	57,762	0,519	65	2,96E+06	3,41E+09	5,25E+07
RA	4,42E+05	0,524	0,080	1,920	6,433	8	0,014	0,336	0,087	0,007	49,511	8,664	69	4,71E+05	3,26E+07	4,72E+05
Média	1,05E+06	0,677	0,291	6,980	5,104	7	6,511	156,274	6,789	0,013	151,404	7,650	77	1,13E+06	6,14E+08	9,32E+06
Mediana	7,56E+05	0,713	0,081	1,932	6,249	8	0,012	0,276	0,108	0,005	60,388	8,611	74	8,46E+05	5,71E+07	7,25E+05
ALG	3,34E+06	0,036	2,910	69,840	0,246	4	0,083	1,992	2,990	0,003	8,351	19,254	54	3,46E+06	7,00E+09	1,30E+08
Média Brancos	1,06E+06	0,657	0,510	12,249	4,132	7	3,634	87,211	4,124	0,020	233,614	8,429	71	1,23E+06	1,01E+09	1,75E+07
Mediana Brancos	6,14E+05	0,754	0,081	1,944	5,322	8	0,014	0,336	0,350	0,007	49,511	8,664	70	1,01E+06	6,27E+07	8,83E+05

Tabela 61 - Parâmetros cinéticos do VHC para pacientes Negros

Negros	V_0 (UI/ml)	ϵ	c (hora ⁻¹)	c (dia)	t_0 (hora)	$t > t_0$	δ (hora ⁻¹)	δ (dia)	λ_1 (hora ⁻¹)	λ_2 (hora ⁻¹)	$t_{1/2}$ (hora)	$t_{1/2}$ (hora)	Peso (kg)	CV Basal HCV (IU/ml)	Taxa de Eliminação (UI/ml)	Produção (virions/d)
AS	4,58E+06	0,934	0,082	1,968	10,385	12	0,001	0,020	0,082	0,001	825,765	8,453	60	1,05E+07	3,01E+08	5,02E+06
JCSS	1,98E+06	0,276	0,246	5,904	5,324	8	0,483	11,592	0,681	0,048	1,435	2,818	86	1,97E+06	5,59E+08	6,49E+06
VAP	9,01E+04	0,173	0,856	20,544	0,249	4	0,209	5,016	1,035	0,030	3,316	0,810	67	9,19E+04	6,91E+07	1,03E+06
Média	2,21E+06	0,461	0,395	9,472	5,319	8	0,231	5,543	0,599	0,026	276,839	4,027	71	4,19E+06	3,09E+08	4,18E+06
Mediana	1,98E+06	0,276	0,246	5,904	5,324	8	0,209	5,016	0,681	0,030	3,316	2,818	67	1,97E+06	3,01E+08	5,02E+06
VR	1,92E+05	0,549	0,119	2,856	0,275	4	0,003	0,076	0,120	0,002	217,560	5,825	60	1,95E+05	1,83E+07	3,05E+05
LHN	2,20E+06	0,820	0,076	1,824	4,867	8	942,313	22615,512	942,327	0,062	0,001	9,120	54	2,50E+06	1,20E+08	2,23E+06
FCDC	4,84E+06	0,993	0,061	1,464	0,964	4	0,257	6,168	0,258	0,060	2,697	11,363	58	4,88E+06	2,29E+08	3,94E+06
Média	2,41E+06	0,787	0,085	2,048	2,035	5	314,191	7540,585	314,235	0,041	73,419	8,769	57	2,53E+06	1,22E+08	2,16E+06
Mediana	2,20E+06	0,820	0,076	1,824	0,964	4	0,257	6,168	0,258	0,060	2,697	9,120	58	2,50E+06	1,20E+08	2,23E+06
JAPS	2,83E+06	0,509	0,285	6,840	4,463	8	0,002	0,046	0,286	0,001	361,768	1,362	62	6,41E+06	6,68E+08	1,08E+07
Média Negros	2,39E+06	0,608	0,246	5,914	3,790	7	134,753	3234,062	134,970	0,029	201,792	5,679	64	3,79E+06	2,80E+08	4,26E+06
Mediana Negros	2,20E+06	0,549	0,119	2,856	4,463	8	0,209	5,016	0,286	0,030	3,316	5,825	60	2,50E+06	2,29E+08	3,94E+06

O decaimento da viremia do VHC ao longo das Fases 1 e 2 foi calculado, à partir da equação cinética, e está graficamente representado nos gráficos 1 a 18, a seguir representados, para os 18 pacientes nos quais o ajuste matemático foi obtido e o seguimento foi completo. Na abscissa utilizamos a escala de tempo em horas, estando ali representadas as horas equivalentes às duas primeiras semanas de terapia, que compreendem as duas fases de decaimento; na ordenada a representação da queda da carga viral do VHC em notação científica.

Grupo 1: Respondedores

Paciente MMF

Paciente EJC

Paciente AS

Paciente CF

Paciente ACS

Paciente JCSS

Paciente VAP

Grupo 2: Recidivante**Paciente RA** **Paciente ESV**

Paciente FCDC

Paciente PRCF

Paciente LHN

Paciente CM

Paciente VR

Paciente MA

Paciente IH

Grupo 3: Não Responder**Paciente ALG** **Paciente JAPS**

A análise dos gráficos obtidos a partir da resolução matemática da Equação cinética de Neumann e colaboradores⁽⁵⁴⁾ revela que para muitos pacientes (ESV, CM, MA e IH) a curva não se mostra ajustada – reforçando que se tratam dos pacientes em que o cálculo dos parâmetros foi possível. Esse fato pode sugerir uma imperfeição da fórmula, questionamos e discutimos adiante.

Apresentamos no anexo as curvas correspondentes aos dados brutos – e não, calculadas - do RNA do VHC obtidas através de gráficos de dispersão com linhas suaves, usando-se escala logarítmica na base 10, para 21 pacientes cujos desfechos são conhecidos (RVS, RNS ou NR) em relação às amostras coletadas nas horas zero, 4, 8, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 72 e dia quatro (12 amostras), então, do primeiro período acrescido dos dias sete, oito, 15, 22 até o dia 29 (17 amostras) e, finalmente, acrescidos dos dias 43, 57 e Semana 12 (20 amostras) – gráficos RVS 1 a NR 3. Os períodos foram selecionados a fim de demonstrar o decaimento precoce na primeira fase e transição para segunda, o período ampliado para as quatro primeiras semanas e para as 12 primeiras semanas, observando-se assim, não só o padrão de redução, mas, principalmente, o momento mais adequado para utilização em predição precoce, além da velocidade de redução. Para cada curva inserimos uma Linha de Tendência, em logarítmico, ressaltando a velocidade de redução para cada tipo de desfecho. A partir desse material elaboramos os dados de predição de resposta que apresentamos nas tabelas 64 e 65. Seguindo o mesmo padrão adotado na resolução das equações, valores expressos como “<1” ou “TND” foram considerados 0,1, ou seja, não utilizamos zero e a menor unidade numérica é 0,1.

Na tabela 62, adiante, representamos a magnitude da redução da viremia do VHC, expressa em $\log_{10}$, por tipo de desfecho e genótipo. Destacamos a tendência encontrada em vários pacientes de uma discreta elevação precoce da viremia e também, eventualmente com elevações maiores que 1 log, entre o terceiro e o quarto dia de terapia o que evidencia que esses momentos devem ser ruins para predição de resposta precoce, ao menos se usarmos um critério de 2 log. A razão para esse fato não está clara e pode estar associada a fatores farmacocinéticos a se estudar futuramente na nossa casuística. Esse fenômeno, porém, também foi observado por outros pesquisadores em monoinfectados ^(NR). Foi mais notada e representativa, em termos de duração, no genótipo 1, mas está presente também no genótipo 3 ($p > 0,05$). No gráfico 19, abaixo, representamos as aferições coletadas entre zero e 96 horas, evidenciando a ausência de redução precoce do VHC para alguns, e até a discreta elevação para outros.

Gráfico 19: Aferição do VHC, em log, para 21 pacientes com desfecho conhecido, hora zero a 96 (Dia 4)

* Nota: Bart Haagmans, comunicação pessoal, Montreal 2005.

Considerando essas observações seria recomendável que para predição precoce negativa da terapia, fosse utilizada oscilação de um $\log_{10}$, ou, em não estando disponível um método sensível e reprodutível como o é o *Real Time PCR*, deve-se optar por um critério de dois $\log_{10}$, sendo a predição mais segura a partir do dia oito, e, preferencialmente, do dia 29, como expressamos nas tabelas 63 e 64.

Tabela 62 - Análise da oscilação (elevação e queda a partir de 24 horas) do VHC, expressa em Log, por tipo de resposta e genótipo nos tempos selecionados.

Paciente	Genótipo	Elevação inicial (se > 1 log citada)	24 horas	48 horas	72 horas	Dia 4	Dia 7	Dia 8	Dia 29	Semana 12
RVS1	3	08 horas	2	2	2	2	3	3	6	6
RVS 2	3	12 horas	1	1	1	1	1	2	5	5
RVS 3	3	12 horas	1	2	2	1	2	2	3	5
RVS 4	1	12 horas	1	2	1	1	2	2	3	5
RVS 5	1	04 horas	1	1	1	1	2	2	5	6
RVS 6	3	08 horas	1	1	1	1	1	1	3	4
RVS 7	3	12 horas	2	2	1	2	2	2	6	6
RNS 1	3	04 horas	1	1	1	1	1	1	3	5
RNS 2	3	04 horas	2	2	2	2	2	3	6	6
RNS 3	1	linear e 12 horas-1log	0	1	0	0	1	2	2	5
RNS 4	1		1	1	0	0	1	1	2	3
RNS 5	3	04 horas	2	1	1	1	2	1	1	6
RNS 6	1	linear e 12 horas	0	0	0	0	0	0	1	1
RNS 7	1	04 horas	0	0	0	0	0	1	1	1
RNS 8	1	08 horas	1	1	2	1	1	1	2	4
RNS 9	1	18 horas	1	1	1	1	0	1	1	3
RNS 10	1	18 horas	0	0	0	0	0	0	0	0
RNS 11	1	18 horas	1	1	0	0	1	1	2	2
NR 1	1	12 horas	0	0	0	0	0	0	1	1
NR 2	1	12 horas	0	0	1	0	0	1	1	3
NR 3	1	linear	1	0	0	0	0	1	1	1

Também representamos, no anexo, graficamente a queda da viremia do VHC aferida para os 21 pacientes com desfecho conhecido. A representação é feita entre os tempos zero e semana 12 (20 amostras) e está representado em UI/ml (Gráficos RVS 1 a NR 3).

Nos gráficos 20 a 23, a seguir, temos a representação da evolução da queda da carga viral do VHC a partir do tempo zero até a Semana 12 (20 medidas), expressa em valores absolutos e em log, agrupada e por tipo de desfecho, para o conjunto de 18 pacientes cujo ajuste matemático permitiu a análise dos parâmetros cinéticos do VHC.

Gráfico 20: Decaimento viral (em log) todos os pacientes, zero a semana 12

Gráfico 21: Decaimento do VHC (log), Grupo RVS, zero a semana 12 **Gráfico 22:** Decaimento, em UI/ml, da viremia do VHC, Grupo RVS, zero a semana 12

Gráfico 23: Decaimento, em log, do VHC zero a Sem.12 para RNS e NR **Gráfico 24:** Decaimento, em UI/ml, do VHC zero a Sem.12 para RNS e NR

Tabela 63 - Preditividade de Resposta Viroológica Sustentada a partir da queda de 1 log da carga viral de VHC e associação da RVP com RVS (p).

24horas 1 Log				
	RVS	RVS ausente		p=0,061
Queda CV presente	7	8	VPP	46,67
Queda CV ausente	0	6	VPN	100,00
Sensibilidade	100	Especificidade	42,86	
48 horas 1 Log				
	RVS	RVS ausente		p=0,061
Queda CV presente	7	8	VPP	46,67
Queda CV ausente	0	6	VPN	100,00
Sensibilidade	100	Especificidade	42,857	
D8 1 Log				
	RVS	RVS ausente		p=0,521
Queda CV presente	7	11	VPP	38,89
Queda CV ausente	0	3	VPN	100,00
Sensibilidade	100	Especificidade	21,43	
D 29 1 Log				
	RVS	RVS ausente		p=1
Queda CV presente	7	13	VPP	35,00
Queda CV ausente	0	1	VPN	100,00
Sensibilidade	100	Especificidade	7,14	
Sem 12 1 Log				
	RVS	RVS ausente		p=1
Queda CV presente	7	13	VPP	35,00
Queda CV ausente	0	1	VPN	100,00
Sensibilidade	100	Especificidade	7,14	

Tabela 64 - Preditividade de Resposta Viroológica Sustentada a partir da queda de 2 log da carga viral de VHC e associação da RVP com RVS (p).

24horas 2 Log				
	RVS	RVS ausente		p= 0,574
Queda CV presente	2	2	VPP	50,00
Queda CV ausente	5	12	VPN	70,59
Sensibilidade	28,57	Especificidade	85,71	
48 horas 2 Log				
	RVS	RVS ausente		p=0,006
Queda CV presente	5	1	VPP	83,33
Queda CV ausente	2	13	VPN	86,67
Sensibilidade	71,43	Especificidade	92,86	
D8 2 Log				
	RVS	RVS ausente		p=0,003
Queda CV presente	6	2	VPP	75,00
Queda CV ausente	1	12	VPN	92,31
Sensibilidade	85,71	Especificidade	85,71	
D 29 2 Log				
	RVS	RVS ausente		p=0,018
Queda CV presente	7	6	VPP	53,85
Queda CV ausente	0	8	VPN	100,00
Sensibilidade	100	Especificidade	57,14	
Sem 12 2 Log				
	RVS	RVS ausente		p=0,123
Queda CV presente	7	9	VPP	43,75
Queda CV ausente	0	5	VPN	100,00
Sensibilidade	100	Especificidade	35,71	

Usando o valor de queda da viremia, expresso em log, mais elevado encontrado para todos os Respondedores, buscamos melhorar o VPP na semana 4 e 12 da terapia, mas o resultado não foi tão significativo e muito menos houve significância para um critério de redução (4 e não 2) logarítmica maior para a semana 12. Os dados estão expressos abaixo na Tabela 65.

Tabela 65 - Preditividade de Resposta Viroológica Sustentada a partir da queda de 3 e 4 log da carga viral de VHC nos dias 29 e sem 12, e associação da RVP com RVS (p).

D 29 3 Log				
	RVS	RVS ausente		p < 0,001
Queda CV presente	7	2	VPP	77,78
Queda CV ausente	0	12	VPN	100,00
Sensibilidade	100	Especificidade	85,71429	
Sem 12 4 Log				
	RVS	RVS ausente		p=0,017
Queda CV presente	7	5	VPP	58,33
Queda CV ausente	0	7	VPN	100,00
Sensibilidade	100	Especificidade	58,33	

A partir das quantificações de HIV efetuadas em paralelo às do VHC, construímos dois gráficos com linhas suavizadas entre os pontos, abaixo representados, com os mesmos 21 pacientes com desfecho conhecido – exclusão do Grupo *LOF*. Observe-se que a viremia do HIV foi bastante baixa, com vários pacientes indetectáveis (valores que consideramos 0,1) e que pontualmente não tivemos uma amostra (IH 30 horas, SRS dia 7 e ALG, dia 29) disponível para quantificar o HIV (suficiente apenas para o VHC) em poucos pacientes. Não realizamos estudos cinéticos para o HIV devido aos valores baixos. Pontualmente aferimos algumas pequenas oscilações no HIV, que *a*

priori revelam-se desprovidas de significado clínico. Assim, em resumo, a viremia do HIV pôde ser considerada estável ante a terapia com Interferon Peguilado e Ribavirina em nossa casuística.

Gráfico 25: Evolução da carga viral, em cp/ml, de HIV nas 12 semanas iniciais de terapia para VHC.

Gráfico 26: Evolução da carga viral, em log, de HIV nas 12 semanas iniciais de terapia para VHC.

A descrição em separado de cada parâmetro cinético obtido para o VHC foi analisada em relação ao tipo de resposta virológica, genótipo e raça. As tabelas abaixo representam as medianas dos valores obtidos para cada parâmetro em relação ao tipo de resposta virológica, genótipo e raça e uma análise comparativa sintética para cada um desses.

Tabela 66 - Eficiência do Interferon

Grupo	(n)	Por tipo de Resposta	Por Genótipo (n)		Por Raça (n)	
			1	3	Branco	Negro
RVS	7	0,792	(2) 0,605	(5) 0,792	(4) 0,881	(3) 0,276
Recidivante	9	0,754	(6) 0,652	(3) 0,841	(6) 0,713	(3) 0,820
NR	2	0,273	(2) 0,273	N/A	(1) 0,036	(1) 0,509
Grupo		N/A	0,537	0,817	0,754	0,549

Conclusões		RVS/Rec > NR	GT 3 > GT 1		Branco > Negro	
		(quase 3 vezes >)				

Grafico 27: Eficiência do Interferon (mediana) por grupos de resposta

Tabela 67 - Taxa de morte células infectadas por hora

Grupo	(n)	Por tipo de Resposta	Por Genótipo (n)		Por Raça (n)	
			1	3	Branco	Negro
RVS	7	0,165	(2) 0,242	(5) 0,165	(4) 0,097	(3) 0,209
Recidivante	9	0,012	(6) 0,013	(3) 0,011	(6) 0,012	(3) 0,257
NR	2	0,042	(2) 0,042	N/A	(1) 0,083	(1) 0,002
Grupo		N/A	0,013	0,097	0,014	0,209

Conclusões		RVS > Rec/NR	GT 3 > GT 1		Negro > Branco	
		(quase 10 x >)	(quase 5 x >)		(mais que 10 x >)	

Grafico 28: Taxa de eliminação de células produtoras de vírus: todas as respostas

Tabela 68 - Taxa de eliminação de partículas virais no plasma por hora

Grupo	(n)	Por tipo de Resposta	Por Genótipo (n)		Por Raça (n)	
			1	3	Branco	Negro
RVS	7	0,246	(2) 0,164	(5) 0,344	(4) 0,204	(3) 0,246
Recidivante	9	0,08	(6) 0,078	(3) 0,081	(6) 0,081	(3) 0,076
NR	2	1,598	(2) 1,598	N/A	(1) 2,910	(1) 0,285
Grupo		N/A	0,101	0,103	0,754	0,119

Conclusões		RVS >Rec/NR	GT 3 $\cong$ GT 1		Branco > Negro	
		(quase 10 x >)			(mais que 5 x >)	

Gráfico 29: Taxa de eliminação viral - "c" : RVS, RNS, NR.

Tabela 69 - Viremia calculada no momento do início da ação do Interferon

Grupo	(n)	Por tipo de Resposta	Por Genótipo (n)		Por Raça (n)	
			1	3	Branco	Negro
RVS	7	6,14E+05	(2) 3,277E+06	(5) 2,38E+05	(4) 4,26E+05	(3) 1,98E+06
Recidivante	9	1,07E+06	(6) 1,319E+06	(3) 1,07E+06	(6) 7,56E+05	(3) 2,20E+06
NR	2	3,08E+06	(2) 3,082E+06	N/A	(1) 3,34E+06	(1) 2,83E+06
Grupo		N/A	2,51E+06	4,77E+05	6,14E+05	2,20E+06
Conclusões		RVS < Rec/NR	GT 3 < GT 1		Branco < Negro	

Tabela 70 - Cálculo da meia vida das células infectadas expressa em horas

Grupo	(n)	Por tipo de Resposta	Por Genótipo (n)		Por Raça (n)	
			1	3	Branco	Negro
RVS	7	4,201	(2) 413,6	(5) 4,201	(4) 14,478	(3) 3,316
Recidivante	9	57,762	(6) 53,636	(3) 63,013	(6) 60,388	(3) 2,697
NR	2	185,060	(2) 185,06	N/A	(1) 8,351	(1) 361,768
Grupo		N/A	53,636	14,478	49,511	3,316
Conclusões		RVS > Rec e NR	GT 1 > GT 3		Branco > Negro	

Tabela 71 - Cálculo da meia vida dos vírions livres expressa em horas

Grupo	(n)	Por tipo de Resposta	Por Genótipo (n)		Por Raça (n)	
			1	3	Branco	Negro
RVS	7	2,818	(2) 5,635	(5) 2,015	(4) 6,423	(3) 2,818
Recidivante	9	8,664	(6) 8,892	(3) 8,557	(6) 8,611	(3) 9,120
NR	2	10,308	(2) 10,308	N/A	(1) 19,254	(1) 1,362
Grupo		N/A	8,559	7,051	8,664	5,825
Conclusões		RVS < Rec e NR	GT 1 > GT 3		Branco > Negro	

Tabela 72 - Cálculo do tempo necessário entre a aplicação e início da ação do Interferon expresso em horas.

Grupo	(n)	Por tipo de Resposta	Por Genótipo (n)		Por Raça (n)	
			1	3	Branco	Negro
RVS	7	5,32	(2) 7,855	(5) 1,208	(4) 3,265	(3) 5,324
Recidivante	9	4,87	(6) 2,916	(3) 6,065	(6) 6,249	(3) 0,964
NR	2	2,36	(2) 2,355	N/A	(1) 0,246	(1) 4,463
Grupo		N/A	4,67	4,46	5,32	4,46
Conclusões		RVS/Rec/NR $\cong$	GT 3 $\cong$ GT 1		Branco $\cong$ Negro	

Tabela 73 - Cálculo da velocidade de queda da viremia para a Fase 1 expressa em horas.

Grupo	(n)	Por tipo de Resposta	Por Genótipo (n)		Por Raça (n)	
			1	3	Branco	Negro
RVS	7	0,611	(2) 0,382	(5) 0,611	(4) 0,481	(3) 0,681
Recidivante	9	0,129	(6) 0,189	(3) 0,129	(6) 0,108	(3) 0,258
NR	2	1,638	(2) 1,638	N/A	(1) 2,990	(1) 0,286
Grupo		N/A	0,272	0,481	0,350	0,286
Conclusões		RVS > Rec e NR	GT 1 < GT 3		Branco > Negro	

Tabela 74 - Cálculo da velocidade de queda da viremia para a Fase 2 expressa em horas.

Grupo	(n)	Por tipo de Resposta	Por Genótipo (n)		Por Raça (n)	
			1	3	Branco	Negro
RVS	7	0,030	(2) 0,024	(5) 0,030	(4) 0,038	(3) 0,030
Recidivante	9	0,007	(6) 0,005	(3) 0,0,007	(6) 0,005	(3) 0,0,060
NR	2	0,002	(2) 0,002	N/A	(1) 0,003	(1) 0,001
Grupo		N/A	0,004	0,026	0,007	0,030
Conclusões		RVS > Rec e NR	GT 1 < GT 3		Branco < Negro	

Tabela 75 - Cálculo da produção diária de vírions

Mediana	(n)	Por tipo de Resposta	Por Genótipo (n)		Por Raça (n)	
			1	3	Branco	Negro
RVS	7	1,58E+06	(2) 5,75E+06	(5) 1,03E+06	(4) 1,05E+06	(3) 5,02E+06
Recidivante	9	8,83E+05	(6) 1,35E+06	(3) 8,83E+05	(6) 7,25E+05	(3) 2,23E+06
NR	2	7,02E+07	(2) 7,02E+07	N/A	(1) 1,30E+08	(1) 1,08E+07
Grupo		N/A	4.480.000	957.000	883.000	3.940.000
Conclusões		NR > RVS e Rec	GT 1 > GT 3		Branco < Negro	

Tabela 76 - Cálculo da eliminação diária de vírions

Mediana	(n)	Por tipo de Resposta	Por Genótipo (n)		Por Raça (n)	
			1	3	Branco	Negro
RVS	7	1,11E+08	(2) 4,30E+08	(5) 6,91E+07	(4) 7,27E+07	(3) 3,01E+08
Recidivante	9	6,27E+07	(6) 7,65E+07	(3) 6,27E+07	(6) 5,71E+07	(3) 1,20E+08
NR	2	3,83E+09	(2) 3,83E+09	N/A	(1) 7,00E+09	(1) 6,68E+08
Grupo		N/A	265.000.000	65.900.000	62.700.000	229.000.000
Conclusões		NR > RVS e Rec	GT 1 > GT 3		Branco < Negro	

Tabela 77 - Cálculo do tempo necessário para que a viremia seja “zero” (0,1) expressa em dias

Mediana	(n)	Por tipo de Resposta	Por Genótipo (n)		Por Raça (n)	
			1	3	Branco	Negro
RVS	7	18,88	(2) 404,68	(5) 18,878	(4) 19,667	(3) 18,875
Recidivante	9	146,75	(6) 146,75	(3) 354,042	(6) 146,750	(3) 171,287
NR	2	247,71	(2) 247,708	N/A	(1) 247,708	(1) -
Grupo		N/A	177,92	27,81	119,13	18,88
Conclusões		NR > RVS e Rec	GT 1 > GT 3		Branco > Negro	

DISCUSSÃO

Como escrevemos anteriormente, a interação das Ciências Biológicas e Exatas é complexa e possui limitações que devem estar claras. Devemos ter em mente que os modelos matemáticos habitualmente usam simplificações e assumem verdades que do ponto de vista matemático são fato, mas não necessariamente o são sob a ótica biológica. O modelo que utilizamos é um modelo Determinístico, ou seja, assumimos parâmetros e variáveis estáticos, não sujeitos a variações aleatórias. Na verdade, deveríamos desenvolver modelos Estocásticos, ou seja, admitindo a existência de variações individuais ou aleatórias em um ou mais dos parâmetros utilizados.

Especificamente, Hermann e colaboradores⁽²⁵⁾ listam uma série de limites à cinética viral. Entre eles (i) ação incompleta e dose-dependente do Interferon no bloqueio da produção viral e no bloqueio da infecção *de novo*, além da elevada morte das células infectadas ou elevada eliminação da população de vírus livre, que são fatos plausíveis e matematicamente simplificados na resolução das equações cinéticas, assumindo-se a possibilidade de extremos (efeito totalmente presente ou completamente ausente, por exemplo). Consideram ainda (ii) a possibilidade de complicações biológicas – nem todos os hepatócitos infectados serem necessariamente produtores de vírus, a possibilidade de outros sítios extra-hepáticos infectados, a presença de complexos imunes – interferindo nos desfechos matematicamente delimitados. Uma terceira limitação (iii) decorre do fato de que o

ajuste dos modelos é adequado apenas para os pacientes respondedores, ou seja, pacientes onde não ocorra o declínio da carga viral ou em quem ocorra um rebote viral, o ajuste não é o ideal, pois os modelos existentes assumem o número de células-alvo como constante durante o tratamento, desconsiderando a vitalidade viral. Finalmente, a maior limitação apontada, (iv) é que os modelos mensuram apenas o compartimento viral, desconsiderando outros relevantes compartimentos onde o VHC pode estar presente. Tais limites implicam que as conclusões sobre o número de células infectadas em um período de tempo longo não devem ser consideradas absolutas e preditores exatos para a duração da terapia. Apesar disso, os parâmetros cinéticos precoces são estatisticamente significantes para predição da resposta virológica sustentada. Devemos considerar os modelos cinéticos atuais como provedores de informações básicas para a compreensão dos processos biológicos e como importante guia para a definição de um plano terapêutico, além de possibilitarem a comparação entre diferentes drogas. Em relação à Fase 2, uma rápida taxa de renovação das células infectadas possibilita inferir na completa erradicação de todas as células produtoras de vírus em um prazo terapêuticamente exequível. Portanto, em que pese os limites existentes, o valor preditivo da queda inicial da carga viral ultrapassa em significância o genótipo e a carga viral basal como preditores de sucesso da terapia com Interferon alfa⁽⁸⁸⁾. Além disso, considera-se que o decaimento da segunda fase também é um ótimo, se não o melhor, preditor de resposta virológica⁽⁸⁷⁾.

Lutchman e Hoofnagle⁽⁴⁵⁾ apontam outras importantes limitações. Por exemplo, o fato de assumir que o Interferon exerça ação antiviral plena desde o início de sua primeira administração e que essa ação seja constante a partir daí, durante a

Fase 2. Na verdade o efeito do Interferon depende de uma complexa interação com múltiplas vias intracelulares e a farmacocinética do Interferon alfa – convencional ou peguilado – é tal que, um nível constante de ação pode nunca ocorrer. Esse aparente paradoxo, no entanto, pode ser explicado a partir de relatos e revisões recentes.

Assim, Taylor e colaboradores evidenciaram a indução de genes estimulados pelo Interferon – ISG - Peguilado foi demonstrada em células mononucleares periféricas nos três primeiros dias de terapia e reduziu-se no sétimo dia, voltando a elevar-se após a administração das doses subseqüentes de Interferon Peguilado, sendo possível, inclusive, agrupar os pacientes com resposta rápida e não respondedores em função do padrão de indução dos genes estimulados ou inibidos pelo Interferon Peguilado⁽⁸⁰⁾. Ji e colaboradores⁽³¹⁾ também utilizando a técnica de *microarray* para avaliar a expressão gênica de células mononucleares periféricas de pacientes portadores de Hepatite C tratados com Interferon convencional, demonstraram que em três e seis horas após a administração da primeira dose de Interferon houve um incremento na expressão de pelo menos duas vezes em 516 genes. Entre os 516, 88 estavam diretamente associados à resposta imunológica em várias funções – apresentação e processamento de antígenos, deslocamento de linfócitos e funções efectoras – demonstrando que o Interferon está diretamente associado ao estímulo de genes que vão atuar contra o VHC. Portanto, seja para o Interferon Peguilado – Taylor – quanto para o convencional – Ji – a estimulação gênica revela-se rápida e de amplo espectro, nitidamente associada ao medicamento, e, pelas características farmacocinéticas das drogas, dissociadas do pico de concentração plasmática. O estímulo muitas vezes é mais precoce até que o

atraso calculado entre a administração do Interferon e o início da sua atuação, por exemplo, de mais de cinco horas (mediana) para os nossos respondedores.

Outro paradoxo apontado por Luchman e Hoofnagle é a habitual normalização dos níveis da transaminases na Fase 2, quando temos a eliminação de hepatócitos infectados e, portanto, esperava-se elevação das enzimas. Tal fato leva a crer que os mecanismos de erradicação viral passem pela destruição das células produtoras por mecanismos que não envolvam a morte celular por necrose ou apoptose, a “cura não-citolítica”. De fato, a estimulação de Genes Estimulados pelo Interferon (ISG), como já comentamos, é o principal mecanismo de inibição do VHC e da indução de um “estado anti-viral” dentro das células infectadas acarretados pelo Interferon alfa. Quanto ao efeito da Ribavirina, não é completamente compreendido (inibição direta e indireta da replicação viral, mutagênese e catástrofe na replicação do VHC, imunomodulação e, estimulação aos ISG, são mecanismos propostos)⁽¹⁵⁾, mas necessariamente não acarreta necrose celular. Estudo da cinética da ALT propõe que a redução observada habitualmente seja justificada pela redução no número de células infectadas que liberavam ALT, quando de sua destruição nos períodos anteriores à terapia⁽⁶⁶⁾. Ainda segundo Lutchman e Hoofnagle, variações individuais no valor “ δ ”, que representa a taxa de morte das células infectadas, podem representar resposta celular diferenciada em cada paciente ou taxa de eliminação variável de sítios extra-hepáticos, ou ambos, fatos não previstos originalmente nos modelos cinéticos.

Outro aspecto discutido pelos mesmos editorialistas⁽⁴⁵⁾, aponta para inconstâncias decorrentes da farmacocinética do Interferon em estudos de cinética viral. Assim, a Fase 2 linear, ou a terceira fase descrita por alguns, pode representar a

ausência de uma ação plena do Interferon decorrente do esquema posológico usado, representando assim um possível *breakthrough* do VHC. Seria necessário, segundo os mesmos, que sob a ótica de valores de “ ε ” díspares (decorrentes da farmacocinética?) fossem considerados estudos com doses de Interferon Peguilado em duas *versus* uma aplicação semanal (a mesma dose total, fracionada) aferindo os padrões de declínio da carga viral e o tipo de resposta obtido. Finalmente, Lutchman e Hoofnagle comentam as limitações dos estudos cinéticos, onde geralmente temos um número de pacientes reduzido e o potencial para erros estatísticos tipo II. Recomendam a necessária realização de estudos controlados com maior poder para validar em definitivo o papel da cinética viral na definição de esquemas posológicos ótimos, duração da terapia ótima e predição de resposta também, ótima. Adiante, discutiremos mais sobre os conceitos iniciais e a visão atual das teorias cinéticas, em linha com as limitações apontadas.

Como já foi apontado anteriormente, o estudo da cinética viral, em particular precoce, poderá ter um valor inestimável na predição da resposta virológica. Assim, em 2001, utilizando um dos Interferons tipo I, que compreendem os Interferons λ , β , α e ω ⁽¹⁵⁾, Fukutomi e colaboradores⁽¹⁹⁾ demonstraram que a intensidade da queda da carga viral do VHC nas primeiras 24 horas de tratamento com Interferon-Beta correlacionou-se significativamente com a Resposta Virológica Sustentada – enquanto outras variáveis cinéticas e clínicas, não. Nesse mesmo ano, Zeuzem e colaboradores, destacavam a relevância da Fase 2 na predição de resposta sustentada, tanto para o Interferon convencional, quanto para o Interferon Peguilado⁽⁸⁸⁾. Já Rosen e colaboradores⁽⁶⁸⁾ encontraram uma correlação significativa entre a intensidade do parâmetro “ δ ” (taxa de eliminação das células infectadas) e a resposta virológica

precoce em seis e 12 semanas. Não foi possível, por insuficiência de dados, fazer uma correlação nesse estudo com resposta da terapia. Zeuzem⁽⁸⁶⁾ destaca que os parâmetros cinéticos precoces, particularmente a velocidade de redução da carga viral, são influenciados pelo genótipo do VHC, sendo menores no genótipo 1 que no não-1, enquanto Layden e colaboradores⁽³⁶⁾ utilizando o Interferon de Consenso, enfatizam a relevância da velocidade de redução como preditor negativo precoce da resposta virológica e a íntima associação entre as curvas de inclinação da Fase 1 e 2, que seriam inter-dependentes. Postulam ainda que uma resposta imune eficaz na Fase 1 reduziria a carga viral a um limite abaixo do qual se iniciaria uma rápida curva de Fase 2. Zeuzem, no entanto, minimiza a preditividade desse parâmetro para uma pequena amostra de pacientes tratados com Interferon Peguilado ou Interferon Peguilado e Ribavirina, ressaltando no entanto, que para o Interferon de Consenso, a eficácia no bloqueio, refletindo a magnitude do decaimento da carga viral na Fase 1, é de fato relevante na predição precoce⁽⁸⁷⁾. As observações de Zeuzem, entretanto, foram rebatidas por Layden e colaboradores⁽³⁷⁾ que, à época, consideravam prematura a transposição das conclusões de seu trabalho para o Interferon peguilado, alegando que a concentração plasmática do Interferon peguilado sobe lentamente e que existem grandes variações cinéticas inter-pacientes após a administração do Interferon peguilado, reafirmando a relevância dos parâmetros da Fase 2 como preditor de resposta virológica. Jessner e colaboradores⁽³⁰⁾ em artigo de revisão publicado em período contemporâneo, acresce o que hoje tem sido a rotina para utilização de predição de resposta ao Interferon Peguilado associado à Ribavirina, ou seja, após três meses de terapia deve haver uma queda maior ou igual a dois $\log_{10}$. Do contrário, a terapia deve ser interrompida por má predição de resposta. A predição precoce, em 24

horas, ou a manutenção da terapia objetivando a lentificação da progressão histológica eram colocadas, como ainda o são, em perspectiva de pesquisa.

Herrmann e colaboradores⁽²⁴⁾ em avaliação mais longa descrevem que a associação de Ribavirina ao Interferon Peguilado foi responsável por uma terceira fase de decaimento viral, mais tardia, após a quarta semana de terapia, e que também se correlacionou com Resposta Viroológica ao término da terapia. Sugeriam que para uma abordagem cinética individualizada as amostras deveriam ser coletadas até a sexta ou oitava semana de terapia. Ressalto que não houve associação estatisticamente significativa com a predição de resposta sustentada e a terceira fase descrita por esses autores.

Considerando que a farmacocinética do Interferon Peguilado quando comparada à do Interferon alfa convencional é mais lenta, embora isso não se reflita na resposta virológica final, Jessner e colaboradores⁽²⁹⁾ propuseram a utilização do declínio da carga viral em 24 horas após uma dose de Interferon convencional como um fator preditor de resposta. A especificidade do valor preditivo positivo para a resposta sustentada quando ocorre uma queda maior que 1,4 log foi de 100%. Esse dado é importante para análise futura pois é um preditor positivo de resposta, enquanto todos os demais estudos discutidos previamente foram sobre preditores negativos de resposta⁽³⁸⁾.

O fator racial tem sido descrito como relevante quando comparamos as taxas observadas de resposta virológica entre negros e brancos ao Interferon ou Interferon Peguilado associado a Ribavirina⁽²⁸⁾. Sob a ótica da cinética viral existem diferenças que podem justificar a menor resposta entre os negros. Quando comparados aos brancos, a eficiência do Interferon, a taxa de eliminação de células infectadas e a taxa

de eliminação de vírions livres foram menores entre os negros, assim como a negatividade viral nas semanas quatro, 12 e 48⁽⁴⁰⁾. Resultados semelhantes são referidos por Layden e Layden⁽⁴¹⁾, destacando a menor eficiência do Interferon em negros, que implica em menor redução da viremia na Fase 1 e 2. Por outro lado, quando se obtém eficiência elevada, a Fase 2 não difere entre negros e brancos. Ressaltam assim uma possível “resistência” ao Interferon entre os negros. Recente publicação de Layden e colaboradores⁽³⁹⁾ avaliou características da interação parasita-hospedeiro. Em relação à denominada “Região Determinante da Sensibilidade ao Interferon” (ISDR), na qual mutações correlacionam-se com maior taxa de resposta virológica, observaram que entre os brancos o número de mutações na alça V3 foi significativamente maior que nos negros fato que poderia justificar a menor eficiência do Interferon na raça negra.

Os conceitos da predição de resposta foram se consolidando na Literatura - em termos de preditividade negativa para os Interferons Peguilados associados a Ribavirina (ausência de queda maior ou igual a 2 log₁₀ na semana 12 de terapia, 97-98% de preditividade negativa para Resposta Sustentada) e positiva (dose teste com Interferon Convencional e queda maior que 1,4 log₁₀ em 24 horas com especificidade de 100% e sensibilidade de 83% para resposta virológica sustentada), aliando-se à discussão, a velocidade de queda, pois pacientes que obtiveram negativação da carga viral até a quarta semana de terapia, foram os com maior probabilidade de obter uma resposta virológica sustentada⁽¹⁶⁾.

Ferenci⁽¹⁶⁾ traz a tona a discussão das diferenças farmacocinéticas entre os dois tipos de Interferon Peguilado – alfa 2a ou 2b – como um fator relevante, sugerindo que devido a sua menor meia vida plasmática, o Interferon alfa 2b deveria

ser utilizado em duas aplicações semanais, pelo menos em uma fase inicial de indução. De fato, embora os resultados clínicos sejam semelhantes aos dois Peguilados disponíveis, diferenças químicas e farmacológicas poderiam levar a diferentes efeitos, como afirma Foster⁽¹⁷⁾ e argumenta Keeffe⁽³³⁾. Assim, o Interferon alfa 2b Peguilado de 12 KDa possui uma rápida absorção e menor meia vida plasmática (4,6 horas e 40 horas, respectivamente) atingindo o pico de concentração após 15 a 44 horas, enquanto para o Interferon alfa 2a Peguilado de 40 KDa temos, 50, 65 e 80 horas⁽¹⁷⁾. Mais, segundo Foster, um estado de equilíbrio somente é obtido para o Interferon Peguilado de 40 KDa após 6 a 8 semanas de utilização. Apesar das diferenças farmacocinéticas, está claro que outros fatores contribuem para a resposta inicial na Fase 1 pois os tempos de absorção, meia vida e pico de concentração são totalmente dissociados da curva de decaimento viral, como discutimos previamente. A análise da farmacocinética, por meio da quantificação plasmática de interferon e das substâncias por ele induzidas – PKR e 2'5' OAS, p.ex. - associada a cinética viral poderá trazer uma melhor compreensão desse aparente paradoxo, sendo nosso objetivo, em um outro momento, realizá-lo em nossa casuística. Estudos preliminares em voluntários sadios que receberam doses variáveis, e progressivamente maiores, de Interferon Peguilado de 40 KDa ou Interferon convencional, evidenciaram um rápido incremento na atividade plasmática da 2'5' OAS que foi dose dependente e se reduziu rapidamente 24 horas após a administração do Interferon convencional⁽⁹⁰⁾, evidenciando que a ação do interferon, convencional ou peguilado, antecede os parâmetros farmacocinéticos ideais. Zeuzem e colaboradores⁽⁹⁰⁾ afirmam ainda que a Ribavirina não afeta a farmacocinética dos Interferons Peguilados e por sua vez, o Interferon não influencia a Ribavirina. A

despite de vários aspectos ainda obscuros e que merecem uma melhor análise para pontuar a relevância da diferença entre os dois tipos de Interferon Peguilado existentes, o modelo cinético clássico de Neumann e colaboradores⁽⁵⁴⁾ - que assume uma concentração da droga mantida, assegurando efetividade estável - não pode ser empregado para o Interferon Peguilado de 12 KDa quando utilizado, como preconizado, em uma aplicação semanal, visto que o declínio na concentração da droga que ocorre entre as doses, leva a uma redução na eficiência do bloqueio do VHC interferon induzida⁽⁶²⁾.

A mais recente revisão sobre cinética viral do VHC⁽⁶⁰⁾, essencialmente questiona o conceito do resultado da terapia depender apenas da eficiência do Interferon (ϵ) que, por sua vez, é influenciada por fatores farmacocinéticos e do regime posológico empregado. De forma pertinente os autores imputam a outros fatores, entre eles etnia e genótipo viral, a devida relevância. Em relação à co-infecção com o HIV - em que pesem os estudos pequenos e limitados pela obtenção de padrões complexos que levaram a perda de ajuste em muitos pacientes – crêem que não existam diferenças na efetividade do bloqueio ao VHC. Ressaltam ainda que a segunda fase reflete uma fase inicial eficiente, criando uma “rede de perda de células infectadas/produtoras” (estando a produção viral parcialmente bloqueada, a carga viral cai – Fase 1 – e ante uma viremia menor, temos menos infecção *de novo*, ou seja, as células infectadas perdidas não são eficientemente repostas e inicia-se uma rede de perda de células infectadas/produtoras e sucessivas reduções da viremia, ocorrem). No entanto, consideram que para pacientes com baixa efetividade do Interferon (ϵ), o decaimento da segunda fase não é um bom indicador de perda de células infectadas porque a infecção *de novo* e a produção viral continuam e afetam a

negativamente a Fase 2. A associação da Fase 2 com perda de células infectadas, destacam, não implica em ação direta das drogas na eliminação de células produtoras (que pode se dar por mecanismos imune-mediados, morte natural das células e perda do RNA do VHC do citoplasma da célula infectada por “cura não-citolítica”)⁽⁶⁰⁾.

Perelson e colaboradores⁽⁶⁰⁾, apontam ainda para a necessidade de modelos que permitam a variabilidade de ϵ , considerado constante nos modelos inicialmente desenvolvidos. Tal variabilidade permitiria incorporar as alterações associadas a farmacocinética dos diferentes tipos de Interferon e explicaria diferentes tipos de curvas não-bifásicas. Tais modelos poderiam admitir valores máximos e mínimos de concentração do IFN⁽⁴⁾ ou ϵ dependente da concentração da droga⁽⁶⁰⁾. Powers e colaboradores⁽⁶²⁾ utilizaram essa abordagem em quatro pacientes co-infectados com HIV e o modelo de Neumann e colaboradores⁽⁵⁴⁾ obteve ajusta para os rebotes virais que ocorriam ao fim da semana, quando a concentração da droga estava reduzida. Uma análise posterior de 21 pacientes desse mesmo estudo⁽⁶⁰⁾ revelou que a concentração do Interferon Peguilado de 12 KDa *per se* não se correlacionou com resposta virológica, mas a efetividade máxima, calculada à partir da fórmula modificada que incorpora a correlação com a concentração do Interferon, e a concentração média na semana dividida pela variável EC_{50} (concentração onde a eficácia da droga em bloquear a produção viral é metade da máxima) correlacionaram-se com a resposta virológica. Considerando que rebotes também foram descritos para outros Interferons convencionais ou peguilados, Perelson⁽⁶⁰⁾ acredita que fatores farmacocinéticos possam justificá-los e assim, o modelo cinético alterado também poderá ser útil para outros Interferons. Segundo Shudo⁽⁷³⁾ a fórmula cinética original pode superestimar a eficiência do Interferon (ϵ) e subestimar a taxa

de eliminação de vírus livre no sangue (c) e células infectadas (δ) a ponto de considerar a antiga fórmula sem utilidade! Ao aplicar o novo modelo obtiveram, no entanto, cálculo de eficiência semelhante aos obtidos com a versão clássica e enquanto a taxa de eliminação de células infectadas foi maior. O próprio grupo de Neumann⁽⁴⁴⁾ reconhece a necessidade de uma reavaliação. Aplicando o conceito de efetividade máxima do bloqueio – Ep_{max} – e da concentração 90% efetiva do Interferon – Ec_{90} – reconheceram não só a flutuação dos níveis de eficiência do Interferon em função da farmacocinética da droga mas também, e principalmente, a relevância da interação com o hospedeiro pois, a despeito da farmacocinética própria, não houve no estudo realizado correlação entre parâmetros farmacocinéticos e parâmetros da cinética viral da Fase 1 ou 2 com qualquer dos Interferons (Peguilado de 12 e 40 KDa e Albuferon) analisados, mas, a sensibilidade individual ao Interferon influenciou na obtenção de RVS.

Em relação ao papel da Ribavirina, Perelson et al⁽⁶⁰⁾ reiteram sua desprezível ação anti-viral na monoterapia. No entanto, destacam que se em um cenário de elevada eficiência do Interferon (ϵ) seu papel na redução da viremia é nulo, ao contrário, quando temos uma baixa eficácia, a Ribavirina pode incrementar a queda da viremia na Fase 2, reconciliando as situações antagônicas em que para alguns pacientes a Ribavirina não incrementa a redução da viremia enquanto para outros, sim. Refutam ainda uma ação principalmente imunomoduladora da Ribavirina, que incrementaria a redução da viremia independentemente da eficiência do Interferon, o que não ocorre nesse modelo, que admite um efeito mutagênico da droga interferindo assim, de forma dinâmica e dose dependente, com a produção viral a partir de células infectadas. Mais, evidenciam a ação exclusivamente na taxa de morte celular (δ) e

nenhuma ação da Ribavirina em ϵ . Finalmente, discutem se o incremento da Fase 2 associado a Ribavirina é devido a um efeito imunomodulador ou se decorre da menor infecção *de novo*, conseqüente à menor quantidade de células infectadas, o que ainda não está estabelecido. O fato é que tal incremento depende da “cadeia de perda de células infectadas”, ou seja, perda de células ou redução da nova produção, e tanto a perda de células (imune-mediada) incrementada como a menor produção (redução da infecção *de novo*), aumentam a “rede de perda”. A mais recente posição sobre o papel e ação da Ribavirina foi estabelecida por Pawlotsky e colaboradores⁽⁵⁹⁾ que refutaram o efeito mutagênico em monoterapia ou associada ao Interferon.

Retomando a relevante predição de resposta, um estudo desenhado de forma a individualizar a terapia da Hepatite C crônica com Interferon Peguilado - DITTO⁽⁵³⁾ - baseando-se no comportamento cinético encontrado e na análise de outras variáveis que envolvem a interface parasita-hospedeiro, evidencia em seus resultados preliminares o valor da utilização de parâmetros cinéticos precoces na predição de não-resposta e, para o sub-grupo dos respondedores rápidos (pacientes com redução de 99% na carga viral ao longo do primeiro mês de terapia), houve uma chance de resposta virológica sustentada, inclusive para os pacientes difíceis de tratar com genótipo 1, de 83%.

Uma preocupação crescente, não restrita apenas a possível interferência nos estudos cinéticos, mas também em relação à eficácia da terapia⁽⁵⁰⁾ é a participação de sítios extra-hepáticos na evolução da Hepatite C. Apesar de ser o fígado o local preferencial para replicação do VHC, existem evidências claras de que ele também se replica em células linfóides e no Sistema Nervoso Central (SNC)⁽⁶¹⁾ o que associado ao fato de que os métodos mais amplamente utilizados para a aferição da resposta

virológica não são sensíveis o suficiente para detectar pequenas quantidades de vírus residual, pode ser relevante na definição de resposta terapêutica ou resolução espontânea. Pham e colaboradores detectaram a presença de fitas negativas de RNA do VHC, ou seja, replicação presente, em 75% das 12 amostras testadas de células mononucleares periféricas oriundas de pacientes com RNA indetectável por metodologia tradicional entre 12 e 60 meses após recuperação espontânea ou após terapia. Recentemente, Blackard e colaboradores⁽⁶⁾ demonstraram a presença em células mononucleares periféricas de portadoras de co-infecção HIV-VHC, de fitas RNA negativas do VHC. Essa detecção foi maior em pacientes co-infectadas do que nas monoinfectadas evidenciando uma possível sinergia entre o HIV e o VHC nesse compartimento. Descrevem ainda a ausência de correlação entre a viremia do HIV e o início de ART com a detecção do RNA do VHC em células mononucleares. Apesar de ser uma amostra pequena, portanto os resultados não são absolutos, esse achado sugere que a reconstituição imune não interfere no compartimento extra-hepático e não é suficiente para controlar a replicação do VHC. Observaram ainda uma correlação inversa entre a contagem de células CD4 e a viremia do VHC no soro, mas não no compartimento das células mononucleares, permitindo especular que essas células funcionem como uma proteção contra a imunidade inata ou adquirida ao VHC. Finalmente, relatam a falta de correlação entre viremia do VHC e a detecção de RNA nos mononucleares, enquanto houve correlação entre a detecção de fitas de RNA positivas no soro e fitas RNA negativas nos mononucleares periféricos, sugerindo assim, mecanismos de controle da replicação distintos para cada compartimento. Os mecanismos de interferência do HIV sobre a replicação extra-hepática do VHC não são ainda conhecidos. Especula-se que apenas a

imunodepressão não é suficiente para tanto – dada, p.ex., a inexistência de correlação entre contagem de células CD4 e VHC extra-hepático. É possível ainda que o HIV induza antagonistas da ação induzida pelo Interferon, reduzindo assim a resposta imune contra o VHC e, finalmente, que o HIV sensibilize alguns tipos de células mononucleares tornando-as mais susceptíveis a infecção ou replicação do VHC.

Furione e colaboradores⁽²⁰⁾ realizaram a quantificação sistemática do RNA do VHC nos compartimentos hepático, sangüíneo e células mononucleares periféricas para pacientes co-infectados com HIV ou monoinfectados pelo VHC não submetidos a terapia com Interferon ou Ribavirina no momento do estudo. A quantificação hepática foi significativamente menor no grupo co-infectado ($p < 0,001$), o mesmo ocorrendo em relação aos mononucleares ($p < 0,001$). Já a quantificação plasmática foi maior entre os co-infectados ($p < 0,001$) quando comparados ao grupo monoinfectado com ALT elevada. Nos próprios grupos, a correlação da quantificação em cada um dos compartimentos foi significativa. Os autores destacam que metade dos co-infectados possuía HIV indetectável, atenuando a influência da imunodepressão sobre a viremia do VHC – que poderia ser ainda maior.

A discrepância entre pequena quantidade de VHC no fígado e a elevada concentração plasmática entre os co-infectados pode refletir a competição entre o HIV e o VHC por células mononucleares, onde se replicariam. Havendo um controle do HIV, um maior número de células estaria livre para a replicação do VHC, refletindo em uma maior produção viral e maior liberação ao compartimento plasmático. Já a pequena concentração de VHC no fígado dos co-infectados deve refletir a utilização dos Inibidores de Protease que, ao re-estabelecerem a resposta dos linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ levam a um melhor controle do VHC e a desaceleração da doença hepática⁽²⁰⁾.

Portanto, existe uma indiscutível relevância dos sítios extra-hepáticos e a complexa interação entre o HIV e o VHC ainda não é totalmente compreendida, no entanto, as evidências fortes de uma independência no controle da infecção e da replicação do VHC nos compartimentos hepático, sangüíneo e nas células mononucleares, reforçam a necessidade de parcimônia na definição de resposta à terapia, mormente no uso dos termos “cura” ou erradicação, e atenuam a importância da predição da resposta feita por modelos cinéticos que não considerem os reservatórios extra-hepáticos, pois sempre poderemos ser surpreendidos por uma recidiva tardia, mormente em pacientes sob risco de intensificação da sua imunodepressão, como é o caso da população co-infectada.

O estudo da cinética do VHC em pacientes co-infectados é uma área pouco explorada e os estudos são conflitantes em alguns parâmetros calculados, além de extremamente pequenos e metodologicamente distintos, o que interfere na análise comparativa. Na tabela 79 apresentamos uma comparação de nosso estudo com os outros quatro encontrados na Literatura^(81,62,72,71). Observamos que nossa casuística de fato é a maior. Sem descartes feitos por nossa opção temos 21, com descartes, 18. Todos os nossos pacientes utilizaram Interferon Peguilado e Ribavirina em dose plena para o peso, nosso intervalo de coleta foi o mais amplo e freqüente e utilizamos uma metodologia de quantificação adequada.

Tabela 78 - Parâmetros cinéticos obtidos em cinco estudos comparativos com pacientes co-infectados^(81,62,72,71).

Autor	Tipo	n	Modificações	Coleta	Método	Esquema	Modelo	CV HCV basal	GT (n)	CD4 mediana	Med/ Mediana	v0 (UI/ml)	c (dia)	δ	ε (%)	Delay (hs)	Produção viral	1/2 vida viral	1/2 vida viral
																		Fase1	Fase 2
																	(dia)		
Torriani	Retrospectivo (Apricot)	10	7 dose completa	0,6,8,12,24,32,48hs d3,4,7,9,11,14,21,28 sem12,24,36,48	COBAS Amplicor	5 Peg40±R 0,8 5 IFN+R	Neumann	560.000	1 (todos)	593	medianas	460.000	2,5/dia (n=7; 3 Peg)	0,3 (n=3; 2Peg)	74,1 (n=7; 4Peg)	12 (n=9)	190.000 (n=8;4Peg)	6,7hs (n=7;4Peg)	2,3 dia (n=3;2Peg)
Powers	Prospectivo	4	0	0,6,12,d1,d2,d3,d5,d6,d7	N/A	Peg12+R	Neumann modificado	ND	1(3); 2(1)	ND	média	5.000.000	5,1/dia	0,3	96 máx 20 mín	9,6	ND	ND	ND
Shire	Prospectivo	10	ND	0,3,6,9,12,15,18,24,30, 48, 72,96,d7,d14	COBAS Amplicor	Peg40+R0,8	N/A	6,7 UI/ml (?)	1(6)	641	mediana	n/a	n/a	n/a	76,2	n/a	n/a	n/a	n/a
Sherman	Retrospectivo (ACTG 5071)	12	4 Peg 8 IFN	0,6,12,24,48,72,d7,d10,d14 d28,d56,sem12,24,48 e 72	COBAS Amplicor	Peg40+R (até 1g) IFN 6mi p/ 3mi + R até 1 g	Neumann	675.000	1(9); 2 (3)	325	mediana	6.800.000	16,07	0,21	81	8,32		16,125	0,1
Araujo	Prospectivo	26	5 LOF 21 seguidos 18 convergentes	0,4,8,12,18,24,30,36,42,48, d3,d4,d7,d8,d15,d22,d29,d43, d57,sem 12	TaqMan	Peg40+R 11mg/kg/dia	Neumann	1.285.000	1(15); 3 (11)	573	mediana	1.070.000	6	0,96	75	4,87	1.580.000	0,61	0,24 (dia)

Sherman e Araujo: mediana dos parâmetros de todos os pacientes em conjunto.

Os estudos apresentados na Tabela 79 são todos realizados em pacientes com contagem de linfócitos $CD4^+$ elevada. Dessa forma a interferência da imunodepressão na cinética do VHC não foi totalmente avaliada entre os co-infectados. Certamente teremos dificuldade em fazê-lo considerando que ainda restringimos a terapia aos pacientes com contagens mais altas de $CD4$, habitualmente acima de 350 células/mm^3 . Sherman e colaboradores⁽⁷¹⁾, assim como Perelson⁽⁶⁰⁾, concluíram que a co-infecção não alterou os parâmetros cinéticos, o que pode ser o reflexo dessa casuística com elevados valores de $CD4$. Sherman ressalta ainda a importância da eficiência do Interferon para obter uma boa taxa de eliminação viral (c), estando evidente nos dados de Powers⁽⁶²⁾ – com Interferon de 12 KDa – a oscilação desse parâmetro em decorrência da variação da disponibilidade da droga. Shire⁽⁷²⁾ descreve como preditores negativos de resposta à terapia para co-infectados, uma baixa eficiência e uma velocidade de eliminação lenta na Fase 2 quando comparados aos monoinfectados. A eficiência do Interferon foi o fator mais importante na definição de RVS entre 12 pacientes co-infectados tratados com Interferon convencional e Ribavirina no estudo de Talal e colaboradores⁽⁷⁸⁾, o que pode ser muito relevante se considerarmos que a eficiência pode se reduzir entre os co-infectados, em decorrência de cargas virais do VHC mais elevadas, acarretando reduções mais lentas da viremia na Fase 1⁽²⁾. Além disso, a necessidade de combater o HIV simultaneamente ao VHC, pode representar uma desvantagem a mais aos co-infectados se comparados aos monoinfectados pelo VHC⁽²⁾. Finalmente, Ballesteros e colaboradores⁽²⁾ mencionam a possibilidade de uma Fase 2 também mais lenta, com uma meia vida dos vírions maior, além de uma diversidade de *quasispécies* que dificulta a eliminação do VHC na Fase 2 e seriam fatores de insucesso que

encorajam terapias mais prolongadas entre essa população. No entanto, considerando todas as dificuldades em comparar os dados entre os estudos e as reduzidas casuísticas, não consideramos possível com base apenas nos parâmetros cinéticos, encontrar as razões pelo menor sucesso da terapia para o VHC entre os co-infectados, mormente por lidarmos com um estrato cujo patamar de imunodeficiência brando, ainda não reduzido ou já reconstituído pelo *HAART*, em muito os aproxima do comportamento dos monoinfectados⁽⁶⁵⁾. Para compreender melhor as dificuldades por que passam os pacientes co-infectados, devemos rever mecanismos básicos da defesa contra o VHC.

A resposta imune do hospedeiro é composta por mecanismos inatos (barreiras muco-cutâneas, células NK e componentes em solução, como, por exemplo, o Complemento e os Interferons tipo I) e por mecanismos adaptativos, representados pela resposta humoral e celular⁽⁵⁵⁾. A resposta inata é responsável pela definição do desfecho da infecção primária⁽⁵⁾. Na linha de frente da defesa contra infecções virais, temos os Interferons tipo I (àqueles produzidos pelas células em resposta ao estímulo viral, enquanto o Tipo II, IFN- γ , é produzido pelas células imunes e atua na regulação da atividade de células NK e T) e novos sistemas que vem sendo descritos, como a família TRIM com duas classes bem definidas, uma que interfere diretamente com a replicação de vírus, em particular retrovírus, e que é estimulada pelo Interferon – TRIM 19 – e outra que bloqueia etapas iniciais da replicação viral, p.ex, TRIM 1 e TRIM 15. A família TRIM possui uma necessária diversidade que minimiza mecanismos de escape viral e contribuem muito na resposta anti-viral do hospedeiro⁽⁵⁷⁾. O início da complexa rede de defesa contra os inúmeros antígenos que podem nos atacar se inicia com a ação de PAMPs (*pathogen-*

associated molecular patterns) que são reconhecidos, por não pertencerem as células de mamíferos, pelo sistema de defesa inato através de receptores especiais – TLRs (*tool-like receptors*) que, por sua vez, induzem a produção de citocinas e a ativação de mecanismos microbicidas dos leucócitos que resultam na ativação e maturação das Células Dendríticas, fazendo a ponte entre o sistema inato e o sistema específico de imunidade. Dependendo do TLR, teremos uma resposta do tipo Th1 – TLR4 – ou Th2 – TLR2 – estendendo aos receptores o paradigma da resposta Th1/Th2⁽⁵¹⁾. Uma nova via específica, e potente, para a resposta ao VHC foi recentemente descrita em modelos celulares – replicons. Trata-se de uma adenosina deaminase que atua em fitas duplas de RNA – ADAR1. Quando inibidas há um expressivo aumento dos replicons, porém, sua ativação induz a uma potente limitação da replicação do VHC pela interferência na síntese do RNA viral. Essa via, aparentemente é tão importante quanto as vias já descritas, que comentaremos, e representa uma excelente perspectiva para pesquisa de mecanismos mais eficazes no combate ao VHC⁽⁷⁹⁾.

Após uma exposição aguda ao VHC, uma resposta celular mediada por linfócitos CD4 e CD8, que seja, rápida, vigorosa e compartimentalizada no fígado, associa-se com erradicação da infecção e a presença de células T de memória eficazes e duradouras⁽⁹⁾. O RNA do VHC – em fita simples ou dupla, intermediários produzidos pela infecção ou replicação - atua como uma PAMP e se liga a um TLR desencadeando uma cascata em resposta ao seu estímulo. Nos hepatócitos, principais alvos do VHC – duas vias independentes – RIG-I e TLR3 – medeiam a rápida expressão de genes que expressam Fatores Reguladores do Interferon (IRF) -3 e Fatores nucleares κ B (NF- κ B), enquanto, em paralelo, outras vias são acionadas. A secreção do IFN- β no local e a presença do IFN- α sensibilizam seus receptores

ativando a via Jak-STAT que ampliará a expressão de ISG – os efetores da resposta do hospedeiro – que interferirão com a replicação viral⁽²¹⁾. Além disso, um grande número de outros ISGs ativados resultarão na produção de uma enorme gama de produtos com ação anti-viral, entre os quais os mais conhecidos são as proteínas Mx, 2'5' OAS e a proteína quinase R – PKR⁽⁸³⁾.

Porém, os vírus necessitam se reproduzir no hospedeiro a fim de assegurar a sua sobrevivência e transmissão a outros hospedeiros. Para tanto, lançam mão de mecanismos múltiplos. No caso do VHC, a despeito da vigorosa resposta que induz, o mesmo consegue se evadir do ataque perpetrado pelos mecanismos de defesa inatos e específicos nos hepatócitos, provavelmente pela ação das suas proteínas core, E2, NS3 e NS5A, que inibem os sistemas Fas, células NK, PKR e IRF-3, além dos mutantes que evadem a resposta humoral, principalmente⁽⁸⁴⁾.

Especificamente para a co-infecção com o HIV, Graham e colaboradores⁽²³⁾ apresentaram os resultados da análise do perfil de resposta imune específica ao VHC entre 133 pacientes co-infectados tratados com Interferon ou Interferon Peguilado alfa 2a, ambos em associação com Ribavirina, por 24 semanas. O CD4 médio foi de 486 e a taxa de RVS geral foi de 19,4%. A análise do padrão de resposta dos PBMCs coletados no tempo basal, semana 24 e 72, submetidos ao estímulo com Antígenos do VHC (core, NS3 e NS5), Cândida e PHA foram aferidos em ELISpot para IFN- γ e IL-10, revelando que não houve diferença da resposta entre os que obtiveram RVS ou foram RNS/NR. Mais, demonstraram que houve uma redução da resposta específica ou de memória ao VHC durante o tratamento e que a presença de uma resposta Th1 preservada na semana 24 se correlacionava com a RVS. Portanto, a ação do Interferon, absolutamente dependente de uma complexa rede de ações

desencadeada em resposta aos ISG e da resposta imune que revisamos, está comprometida entre os co-infectados. Na infecção crônica, em mono ou co-infectados, temos uma diminuição da resposta celular contra o VHC, no entanto, dados recentes mostram que uma das possíveis ações do Interferon durante a terapia que resulta em sucesso é a de restaurar a memória de um padrão de resposta celular perdido⁽³²⁾, sendo possível que essa ação, a restauração, esteja diminuída no co-infectado, como sugerem os dados de Graham e colaboradores⁽²³⁾.

A análise dos resultados obtidos por nós é bastante desafiadora. Inicialmente ressaltamos que nosso estudo é bastante complexo sob o ponto de vista logístico e financeiro, razão pela qual acreditamos que relativamente poucos estudos cinéticos tenham sido realizados (em particular entre pacientes co-infectados) e com casuísticas sempre reduzidas ou derivadas de sub-análises de outros trabalhos realizados com outros objetivos, como já ocorreu entre os monoinfectados e os grandes estudos referência para os Interferons peguilados de Manns e colaboradores⁽⁴⁶⁾, e Fried e colaboradores⁽¹⁸⁾. Como já comentado, nossa casuística revela-se, se não a maior, entre as maiores descritas para os estudos de cinética viral em pacientes co-infectados com o HIV, e a única que utilizou de maneira uniforme a associação do Interferon Peguilado, no caso o Interferon Peguilado de 40 KDa, e Ribavirina em dose adequada pelo peso, por 48 semanas, como hoje preconizado nos protocolos terapêuticos⁽⁷⁵⁾. Também utilizamos um método quantitativo ideal para os estudos cinéticos com reprodutibilidade e um limite de detecção amplo o suficiente para evitar a necessidade de diluição das amostras para estimar viremias elevadas ou, a perda de viremias muito baixas, no extremo oposto⁽⁵⁸⁾. Foi possível ainda quantificar de forma paralela o HIV, buscando eventuais interferências da terapia

com Interferon Peguilado e Ribavirina sobre a sua carga viral. Porém, de fato, o que foi decisivo para nós foi a participação dos pacientes com um nível de adesão às coletas de amostras notável, praticamente integral, assim como a felicidade de contar com uma equipe de trabalho bastante dedicada e motivada.

Nosso objetivo principal foi descrever a cinética do VHC em pacientes co-infectados com o HIV, além de demonstrar sua potencial utilização no manuseio dessa população. Apesar disso, observamos quais foram nossas taxas de resposta à terapia. Assim, apresentamos na tabela 80 os resultados de Resposta Viroológica Sustentada – RVS – em uma abordagem estrita por Intenção de Tratamento (ITT) de nossos pacientes, comparando nossos resultados com as principais publicações relacionadas à terapia de pacientes co-infectados pelo HIV e VHC utilizando a associação do Interferon Peguilado a Ribavirina.

Tabela 79 - Análise comparativa da RVS (ITT) e diferentes estudos de co-infecção HIV/VHC tratados com Interferon Peguilado e Ribavirina^(82, 13, 12, 34, 3).

Autor	Terapia	Pacientes	CD4 médio	RVS todos	RVS Genótipo 1	RVS Genótipo 2/3
Torriani	PegIFN 40/RBV 800 mg	224	520	40%	38%	64%
Chung	PegIFN 40/RBV 600 a 1000 mg	66	453	27%	14%	73%
Carrat	PegIFN 12/RBV 800 mg	210	477	27%	17%	44%
Laguno	PegIFN 12/RBV 800-1200mg	52	570	44%	38%	53%
Ballesteros	PegIFN12/ RBV > 10,6 mg/kg	28	554	28,6%	11,1%	60%
Araújo	PegIFN40/RBV 1000-1250 mg	26	573	26,9%	13,33%	45,45%

Embora sejam estudos distintos, o que não permite comparações diretas, enfatizamos a semelhança dos resultados, em termos de resposta virológica, entre os nossos dados e os publicados, sendo as únicas exceções os estudos de Torriani e colaboradores⁽⁸²⁾ e, em menor escala, o de Laguno e colaboradores⁽³⁴⁾, em que as taxas de RVS observadas foram mais elevadas do que o habitualmente publicado e observado na prática clínica corrente.

O teste de associação de hipóteses entre características basais e desfecho elaborado por nós, evidenciou pouca relevância estatística para nossas suposições preliminares, mesmo para àquelas já descritas de forma consistente (carga viral basal elevada, idade, etnia, etc), fato que pode ser interpretado como um limite relacionado à nossa pequena casuística ou a particularidades genéticas, por exemplo, entre nossos negros. A dificuldade para demonstrar estatisticamente a significância dos fatos descritos por nós não nos surpreendeu e já ocorreu com outros estudos (Tabela 79) e foi comentada por Hoofnagle como uma limitação de todos os estudos cinéticos⁽⁴⁵⁾. Entre nossos pacientes, para as variáveis demográficas (Gênero, Idade e Raça), comportamentais (adesão a Ribavirina), virais (Carga Viral Basal de VHC, Genótipo do VHC), clínicas (contagem de Linfócitos CD4, ART, Cirrose Hepática e Peso) quando confrontadas ao desfecho da terapia (Resposta Virológica Precoce e ao Fim da Terapia), submetidas ao Teste Exato de Fischer, com nível de significância de $p < 0.05$, apenas a variável “Genótipo 1 ou 3” associou-se com Resposta Virológica Sustentada ($p < 0.04$) com maior possibilidade de resposta nos infectados pelo Genótipo 3. Apesar de não significativo, dada a relevância do fator racial como um preditor de menor RVS para os negros, também selecionamos raça como fator a ser testado em relação aos parâmetros cinéticos calculados por nós - já apresentados.

Como descrito, nosso modelo cinético baseou-se na fórmula proposta por Neumann e colaboradores⁽⁵⁴⁾, e que tem como princípio a estabilidade da eficiência do Interferon ao longo do tempo. Na verdade esse conceito que já era em si questionável, se pensarmos apenas sob a ótica da farmacocinética (para a qual existe uma concentração máxima e mínima dos fármacos, pelo menos até um equilíbrio se estabelecer), também tem sido questionado sob a ótica matemática⁽⁶⁰⁾. Assim, propõe-se atualmente que a variável “eficácia” seja modulada de acordo com a farmacocinética do Interferon, admitindo-se um valor máximo e mínimo na eficiência, refletindo a concentração máxima e mínima do Interferon. A fórmula até recentemente utilizada por todos não se ajustava para pacientes tratados com o Interferon Peguilado de 12 KDa, cuja meia vida é menor, e não previa um rebote viral que ocorre ao final da semana com essa droga. No entanto, mesmo em nossos pacientes, que utilizaram o Interferon Peguilado de 40 KDa, pelo menos no início da terapia para os que obtiveram RVS e nas semanas subseqüentes aos demais, também apresentaram os rebotes virais que descrevemos. Tal fato pode decorrer da farmacocinética, de fatores imunológicos do hospedeiro ou, do vírus, mas implica em alterações potenciais alterações matemáticas - mesmo para os pacientes ajustados – que talvez expliquem vários resultados discrepantes que prejudicaram a análise estatística e, provavelmente, ocultaram a significância de parâmetros que seriam, por analogia aos monoinfectados, de certa forma esperados em nossa casuística. É nesse contexto, da renovação conceitual proposta por Perelson⁽⁶⁰⁾ e quando a farmacocinética e a “bio-cinética” – uma expressão que representa a resposta do indivíduo ao Interferon – despontam como fenômenos que precisam ser melhor compreendidos e conhecidos, que apresentamos os resultados calculados para os

parâmetros cinéticos de nossos pacientes, utilizando a fórmula original (até então o padrão referência para todos). Reconhecemos assim que os nossos dados, e todos os já publicados, podem não ser absolutos, pelo menos para o parâmetro “ δ ” mas possivelmente também para “ ϵ ” e “ c ”, conforme preconizado por Perelson e colaboradores⁽⁶⁰⁾ e deverão ser re-analisados quando essa questão matemática estiver mais clara.

Considerando esse preâmbulo, analisamos a totalidade de nossos 26 pacientes separados em quatro grupos, respondedores (RVS), recidivantes (RNS), não respondedores (NR) e perda de seguimento (LOF), com sete, onze, três e cinco pacientes respectivamente. Os dados e a metodologia foram apresentados anteriormente. A resolução da equação cinética, mesmo após a utilização de métodos numéricos para a obtenção do melhor ajuste, demonstrou o não ajuste ao modelo de quatro pacientes no grupo LOF. Ao restante nesse grupo, os valores revelavam-se acima do padrão observado nos demais pacientes, não havendo uma justificativa para tanto. Esse fato, associado ao de não conhecermos o desfecho do mesmo, fez com que optássemos pela sua exclusão da análise. Entre os recidivantes, observamos o não ajuste matemático para dois pacientes, que também foram excluídos. No grupo NR, um paciente foi excluído da análise pelo não ajuste, enquanto no grupo RVS todos apresentaram um bom ajuste ao modelo. Portanto, sob o ponto de vista matemático o grupo RVS integralmente, nove de onze recidivantes e dois de três não respondedores foram analisados.

Na seqüência tabela 57 apresentamos todos os resultados obtidos para cada paciente e posteriormente, nas tabelas 58 a 61, os resultados por parâmetros agrupados de acordo com o tipo de resposta obtido, genótipo e raça. A análise de

cada parâmetro individualmente revela que alguns indivíduos, apesar da obtenção do ajuste matemático, possuem resultados numericamente fora do padrão observado aos demais. Além da implicação no parâmetro individual, considerando a interdependência dos fatores das equações matemáticas, tal distorção pode contaminar a resultante de outros parâmetros cinéticos para o paciente. Não sabemos se tal fato se origina por razões biológicas ou matemáticas, relacionadas às limitações da fórmula utilizada. O fato de termos um número de indivíduos pequeno além de dificultar a análise estatística na obtenção de um nível significativo para as associações avaliadas, não auxiliou na definição dessa dúvida, particularmente para os não respondedores, com apenas dois pacientes aptos para análise. Nos dois outros grupos, mais numerosos, a noção de uma tendência numérica padrão foi mais facilmente visualizada, no entanto, o mesmo limite se impôs nos subgrupos definidos pelo genótipo e raça, onde um indivíduo com valor fora da tendência aparente, interferia significativamente na obtenção da média, e, por vezes, da mediana do parâmetro no seu grupo por resposta ou subgrupo por genótipo ou raça. Nossa opção foi a de utilizar, como a maior parte das publicações o faz⁽⁷¹⁾, as medianas obtidas por grupo de resposta ou subgrupo – genótipo e raça – minimizando as distorções matemáticas decorrentes de indivíduos com valores fora do padrão obtido nos demais do mesmo grupo. Mesmo assim, ainda persistiram discrepâncias ao confrontarmos alguns parâmetros para determinados subgrupos e nossa opção final ao analisar o conjunto de parâmetros foi de ressaltar as limitações encontradas e menosprezar situações biologicamente pouco plausíveis, como por exemplo para o parâmetro taxa de eliminação de células infectadas (δ) em que o subgrupo negro ($n = 7$) apresentou parâmetro 10 vezes maior que o branco ($n = 11$), algo pouco provável

biologicamente, e um dos pacientes negros, isoladamente, possuía um elevado valor calculado que interferiu na análise final, mesmo considerando a mediana do grupo. Isso posto e já tendo apresentado os resultados de forma individual e agrupada, passamos à discussão do que foi observado por nós.

A análise dos parâmetros cinéticos calculados para a Fase 1 revelou que a Eficiência do Interferon foi maior nos grupos respondedores – RVS e RNS – do que no não respondedor. Além disso, foi maior entre o Genótipo 3 e entre os brancos. O resultado foi assim compatível com o biologicamente esperado, o que é muito importante pois esse parâmetro é crucial para o desfecho da terapia. Não obstante, observamos que, mesmo entre os respondedores negros a eficiência foi baixa para dois indivíduos (27% e 17%) e para um entre os brancos (39%). O paciente com eficiência de 27% também possuía o genótipo 1. Assim, para esses indivíduos, a despeito de um valor baixo, houve o sucesso da terapia, o que pode representar apenas um viés matemático ou uma explicação biológica individual que compense a baixa eficiência da droga, uma vez que para o parâmetro taxa de eliminação de vírions livre, também essencial, seus valores foram elevados, compensando assim a baixa eficiência do Interferon.

O segundo parâmetro analisado foi a taxa de eliminação de vírions livres do sangue (c). A comparação das medianas revelou que o grupo RVS foi dez vezes maior que os grupos RNS e NR, assim como brancos foram cinco vezes maiores que os negros. Os resultados entre genótipos foram semelhantes, estando dentro do biologicamente plausível.

A análise da viremia calculada no momento do início da ação do Interferon (V_0) evidenciou que a mediana para o grupo RVS foi menor que a dos grupos RNS e

NR, assim como para os subgrupos brancos e genótipo 3 a viremia calculada foi menor que para negros e genótipo 1. Esse parâmetro atingiu o nível de significância definido ($p < 0,05$) na comparação entre os genótipos 1 e 3 ($p = 0,021$). Em termos numéricos, as medianas calculadas são menores entre RVS, brancos e genótipo 3 em um $\log_{10}$. Portanto, a preditividade do parâmetro V_0 mimetizou a predição da carga viral basal elevada versus baixa, já bem estabelecida previamente pela Literatura⁽⁶⁷⁾.

O último parâmetro da Fase 1 calculado foi o intervalo entre a administração do Interferon e o seu tempo de ação (t_0). Não houve diferença entre as medianas dos grupos, refutando, *a priori*, questões associadas a farmacocinética da droga e foi semelhante ao descrito por Neumann e colaboradores⁽⁴⁴⁾, que não associaram a farmacocinética a resposta observada em seus pacientes, imputando mais a sensibilidade individual (“bio-cinética” ?) o papel pelo sucesso da terapia.

O primeiro parâmetro analisado na Fase 2 é essencial para o sucesso da terapia⁽⁸⁷⁾. Assim a comparação das medianas entre RVS, RNS e NR revelou que a taxa de eliminação de células infectadas (δ) foi dez vezes maior entre os respondedores sustentados e cinco vezes maior entre os infectados por genótipo 3. Um indivíduo no subgrupo negros, para o qual o resultado calculado nesse parâmetro foi extremamente alto, inverteu essa relação para o subgrupo, o que atribuímos a um fenômeno matemático e não biológico. Não obstante, nossos cálculos para os parâmetros principais na definição do sucesso da terapia, estão compatíveis com o esperado para as variáveis analisadas em nossos pacientes.

A velocidade de redução da viremia na Fase 1 está diretamente associada ao sucesso da terapia, determinando o patamar viral inicial para a curva de decaimento na Fase 2 da análise cinética⁽²⁵⁾. Assim, quanto maior a inclinação nas Fases 1 (λ_1) e

2 (λ_2), ou seja, quanto mais velozes as curvas de decaimento, maior será a possibilidade de eliminação viral. A análise desses parâmetros calculados para nossos pacientes foi maior para os grupos RVS em comparação com RNS e NR, e Genótipo 3 comparado com Genótipo 1. A análise entre os subgrupos brancos e negros evidenciou, novamente em nossa interpretação por interferência matemática, a inversão desse parâmetro que foi maior entre os negros, o que é biologicamente menos provável.

Buscamos resolver matematicamente qual seria o tempo necessário para que a carga viral fosse reduzida a zero, utilizando para tanto os parâmetros calculados para cada paciente e posteriormente agrupados em suas medianas. Os grupos de pior resposta, teoricamente, levariam mais tempo para tal feito, assim, os grupos RVS e genótipo 3 levariam menos tempo que os grupos RNS, NR e genótipo 1. O grupo negros versus brancos refletiu as distorções matemáticas já comentadas, sendo assim a resultante de negros maior que a dos brancos. É evidente que esse exercício teórico não se sobrepõe à realidade biológica, onde temos que considerar, além de todas as variáveis decorrentes da interação parasita-droga-hospedeiro, a possibilidade do papel dos compartimentos extra-hepáticos no re-povoamento dos demais compartimentos – hepático e sangüíneo. No entanto, dimensiona o potencial teórico para a duração da terapia, mormente quando se cogita a extensão da mesma para evitar as recidivas.

O alcance da cinética é restrito as primeiras semanas da terapia e sua aplicação clínica decorre do potencial preditivo que se obtém precocemente. Assim, o sucesso de uma terapia mais prolongada envolve mais que os conceitos de produção e eliminação virais oriundos da cinética. A análise desses últimos

parâmetros revelou que a taxa de produção de vírus a partir das células infectadas em nossos pacientes foi maior entre os grupos NR, genótipo 1 e negros, sendo a mesma conclusão, paradoxalmente (refletindo interferências matemáticas de valores individuais ?), quando analisamos a taxa de eliminação viral por dia, ou seja, maior entre NR, genótipo 1 e negros. Finalmente, o cálculo da meia vida dos hepatócitos infectados e vírions livres foi crescente em relação aos grupos RVS, RNS e NR, sendo as medianas respectivas de 4,2 e 2,8 horas (RVS), 55,7 e 8,6 horas (RNS) e 185,06 e 12,65 horas (NR). Na tabela 78 nossos resultados podem ser comparados aos demais estudos cinéticos nessa população co-infectada.

O comportamento cinético diretamente aferido também foi analisado para o HIV e o VHC.

Em relação ao HIV, pudemos observar que não houve nenhum efeito inesperado em termos de elevação ou da redução de sua carga viral e as alterações observadas foram muito discretas, como por exemplo, para dois pacientes que apresentaram uma redução transitória de até três $\log_{10}$ a partir do quarto dia da administração da primeira dose de Interferon Peguilado. Em ambos houve uma ligeira ascensão da viremia nas primeiras oito horas, seguida então da redução. Um dos pacientes estava em uso de antiretrovirais com CD4 basal de $653/\text{mm}^3$ e carga viral basal baixa, 1850 cp/ml, enquanto o outro não usava terapia, possuía CD4 de $400/\text{mm}^3$ e carga viral basal de 9930 cp/ml. Esse efeito não foi mantido, havendo uma tendência de elevação observada a partir do dia 57 de terapia. Essa descrição, ressaltamos, é meramente ilustrativa e ocorreu em um nível de viremia baixo, com múltiplos interferentes na análise e não permite inferir que o Interferon tenha tido qualquer ação sobre o HIV.

Já em relação ao VHC, a análise direta das aferições nos leva a relevantes observações. Considerando o desequilíbrio acarretado ao sistema em equilíbrio dinâmico⁽⁵⁶⁾ após a introdução da terapia observamos que vários pacientes, independentemente do genótipo, entre quatro e 12 horas após o início da terapia temos uma elevação da viremia (gráfico 19 e Tabela 62) que pode chegar até um $\log_{10}$ ou ainda, um padrão linear, sem a deflexão negativa da curva. A partir desse momento, observamos uma redução da carga viral, cuja velocidade e intensidade se diferencia entre os diferentes tipos de resposta à terapia, nas primeiras 48 horas de terapia. Entre o terceiro e o quarto dia, notamos (Tabela 62) que entre os 21 pacientes com seguimento completo e analisados, 11(52, 38 %) apresentaram uma nova elevação da carga viral cuja magnitude foi suficiente para uma alteração de pelo menos um $\log_{10}$ em relação ao período antecedente de 24 ou 48 horas. Para um paciente a elevação ocorreu entre o Dia 4 e 7, mas não colhemos nos dias 5 e 6, para saber se foi antes. A elevação precoce foi observada em dois dos sete respondedores (25,57 %), sendo um genótipo 1 e outro genótipo 3, seis dos 11 recidivantes (54,54%), sendo um genótipo 3 e cinco genótipo 1, e, em dois dos três não respondedores (66,67%). A visualização desse efeito se traduz, como mostramos nos gráficos do anexo, por pequenas oscilações em elevação ou linhas retas. Tal efeito, tendência de elevação, pôde ainda ser observado, apenas, entre os recidivantes e não respondedores, ao término da primeira semana de terapia e também, para alguns desses pacientes, ao longo das semanas subseqüentes até a semana 12 de terapia, porém, não mais com a mesma magnitude logarítmica e já se traduzindo em curvas com poucas oscilações e com tendências a linearialidade, como fica evidente pela análise dos gráficos apresentados para cada paciente em escala logarítmica e com

suas linhas de tendência (anexo). A análise das curvas construídas a partir da aferição direta da viremia e sem o tratamento logarítmico (anexo), evidenciam oscilações precoces que, evidentemente, mimetizam o descrito anteriormente. Uma primeira explicação, já descrita⁽⁶⁴⁾, seria a interferência entre o HIV e o VHC. No entanto, a baixa viremia de HIV e a doença controlada para os participantes do estudo minimiza essa possibilidade. A condição de preparo, manuseio e transporte das amostras, sob refrigeração a $-70/80^{\circ}\text{C}$, bem como a execução dos testes em laboratório de excelência, utilizando um método bastante reprodutível e sensível para quantificações em uma gama ampla de viremias, desde muito baixas até enormes, como é o caso do *Real Time PCR*, minimiza o potencial para a influência de fatores externos, associados ao ambiente e a técnica. Além disso, os padrões se repetiram para todos os grupos, que coletaram amostras em momentos diferentes, eliminando, assim, o fator coleta e preparo como um potencial interferente. Finalmente, a mediana de nossas quantificações basais foi de 1.285.000 UI/ml, ou seja, dentro do limite de detecção máximo do ensaio utilizado, que é da ordem de 10^7 ⁽⁵⁸⁾, impossibilitando também esse fator confusional. Duas questões originam-se dessas observações. A primeira, se há ou não um papel do genótipo nesse fenômeno de elevação precoce da viremia observado entre o terceiro e quarto dia da terapia? Assim, entre 10 elevações observadas, em oito (80%), o genótipo 1 estava presente ($p > 0,05$). Portanto, não houve associação. A segunda questão interfere na predição da resposta, e essa questão é crucial.

Como mostramos nas Tabelas 64 e 65, podemos prever precocemente a ausência de resposta virológica sustentada analisando a intensidade da redução logarítmica desde as primeiras 24 horas da terapia. Para tanto, escolhemos o valor

utilizado para aferição de resposta virológica precoce na semana 12 da terapia, 2 log₁₀, e também, um log₁₀. Os momentos para predição foram escolhidos baseando-nos na primeira fase da cinética viral, considerando períodos completos de 24 horas – assim avaliamos 24 e 48 horas – e também ao término da primeira e quarta semanas, coincidindo com as aplicações de doses de Interferon Peguilado, e, finalmente, na semana 12, que é o parâmetro precoce classicamente aferido. Pacientes que não apresentem redução de um log₁₀ em relação à viremia basal com 24 e 48 horas, ou no dia 8 e 29, ou ainda na semana 12 após o início da terapia possuem um Valor Preditivo Negativo (VPN) para Resposta Virológica Sustentada de 100% (sensibilidade de 100% para todos os momentos e especificidade de 42,86; 42,87; 21,40; 7,14 e 7,14%, respectivamente). Se utilizarmos uma redução maior, dois log₁₀, o VPN para a ausência de redução nesse patamar é de 92,31% no dia oito (sensibilidade 85,7%, especificidade de 85,7%) enquanto, para os dias 29 e semana 12, já temos 100% de VPN, com sensibilidade de 100% para ambos e especificidade de 53,8 e 35,7 %, respectivamente. A correlação entre a resposta virológica precoce estabelecida por nós nas primeiras horas/dias de terapia e a presença de Resposta Virológica Sustentada (RVS) foi avaliada pelo teste exato de Fischer e, conforme evidenciado na Tabela 64, foi significativa para reduções maiores ou iguais a dois log₁₀ para 48 horas (p=0,006), Dia oito (p=0,003) e dia 29 (p=0,018). Portanto, é possível predizer muito precocemente quem não vai responder de forma sustentada à terapia e há uma associação estatisticamente significativa entre a Resposta Virológica Precoce com redução de 2 log₁₀ em 48 horas ou oito e 29 dias na nossa casuística. Algumas recomendações originam-se da descrição do comportamento cinético do VHC e são comentadas a seguir.

O uso do critério redução de apenas um $\log_{10}$ infere na obrigatoriedade de uma técnica sensível e reprodutível como a que foi utilizada por nós. Nesse cenário, o esforço deve estar centrado em aferir com 24 ou 48 horas evitando os períodos em que pode haver uma elevação transitória da viremia, de até um log em sua magnitude, como é o caso para o terceiro e quarto dia de terapia, sob pena de erroneamente predizer negativamente um paciente que efetivamente reduziu sua carga viral e estava em um período transitório de elevação. Ao se utilizar o critério de 2 $\log_{10}$, o VPN mais adequado é obtido mais tardiamente, à partir do oitavo dia de terapia. Assim, nesse caso, o efeito dessa elevação transitória descrita é minimizado.

Utilizamos também o menor valor de redução logarítmica da carga viral observado entre os respondedores no dia 29 e semana 12 de terapia, objetivando estimar sua preditividade. Não houve melhora no desempenho em termos de VPN, mantido em 100%, e o VPP para uma redução de 3 $\log_{10}$ no dia 29 foi de 77,78%, porém houve uma associação forte entre a presença da resposta precoce no dia 29 e RVS ($p < 0,001$) – Tabela 65.

A utilidade do VPN da redução precoce do VHC deve ser estabelecida sob uma análise ampla. Os aspectos financeiros e custo-efetividade, são sem dúvida essenciais, mormente para os países com menores recursos, como é o caso do Brasil. No entanto, entre os co-infectados com HIV, também temos mais evidente a questão dos efeitos adversos e, principalmente, os riscos da toxicidade oriunda dos medicamentos e da interação da Ribavirina com os antiretrovirais. Portanto, predizer precocemente a resposta pode resultar em redução de custos diretos – Interferon Peguilado e Ribavirina – e indiretos – terapia dos efeitos adversos e de suporte. Implica ainda em redução do potencial efeito adverso da terapia, evitando a

desnecessária e, nesse caso, fútil, exposição a riscos. Outro aspecto, nesse caso muito relevante, é o impacto positivo da obtenção precoce da redução necessária da carga viral compatível com preditividade negativa ausente. Se não podemos fazer a correlação positiva numericamente representativa, ao menos podemos intensificar nossas ações para manter esses pacientes sob terapia, incrementando as táticas para uma completa adesão e combatendo intensamente os efeitos adversos que se impuserem. Também, os aspectos psicológicos são muito importantes, em todos os sentidos, positivamente, ao motivar os pacientes sem preditividade ruim, e, para aqueles com receio da terapia, assegurando a possibilidade de interrupção precoce, caso não seja obtida desejada redução de viremia.

Evidentemente não podemos recomendar a partir dos nossos dados que essas medidas sejam empregadas rotineiramente, como ferramenta para interromper precocemente o tratamento. Além disso, devemos considerar a possibilidade de modular a evolução da fibrose hepática com a utilização prolongada da terapia com Interferon, objeto de dois estudos em curso⁽⁴³⁾ ou ainda, o potencial para reduzir as recidivas com terapia mais prolongada em pacientes co-infectados. No entanto, também não podemos ignorar o fato de que o melhor controle do HIV e o uso de terapia anti-retroviral estão associados com a modificação da história natural da Hepatite C em co-infectados com o HIV⁽⁸⁾, tornando-a bastante semelhante à do mono-infectado. Isso, sem dúvida, nos obriga a refletir sobre a necessária estratificação dos pacientes em graus diferenciados de risco. Aos com bom controle do HIV e doença hepática relativamente branda a moderada, a interrupção precoce deve ser custo-efetiva. Aos com doença pelo HIV controlada, porém com fibrose hepática e atividade inflamatória intensos, a manutenção da terapia poderia ser

considerada. E, finalmente, independentemente do grau de doença hepática, aos portadores de infecção pelo HIV não controlada, o passo inicial e prioritário é o controle do HIV, para então definir a conduta para o VHC.

Nossos resultados também recomendam que protocolos específicos com esse objetivo, predição precoce de resposta, ou, se possível, que a análise retrospectiva dos Bancos de Dados de estudos referência, à semelhança do que foi feito em mono-infectados pelo VHC, validem de forma incontestável nossos achados. É importante destacar que à nossa semelhança, Ballesteros e colaboradores⁽³⁾ demonstraram em 21 pacientes co-infectados com HIV e submetidos à terapia com Interferon Peguilado de 12 KDa 1,5 mcg/kg/semana associado a Ribavirina em dose superior a 10,6 mg/kg dia, a possibilidade de predição positiva e negativa de resposta ao término da semana 1 e 4 (VPP 100% e VPN 68,4% para semana 1 e VPP 100% e VPN 92,9% na semana 4) utilizando o critério de redução maior ou igual a 2 log₁₀. Moreno e colaboradores⁽⁴⁹⁾ encontraram entre 36 pacientes co-infectados tratados com associação de Ribavirina e Interferon alfa 2b Peguilado a melhor predição para resposta a terapia na semana quatro, sendo o VPN para a ausência da queda de pelo menos um log₁₀ de 100 %. Chung e colaboradores⁽¹³⁾, assim como Torriani e colaboradores⁽⁸¹⁾, utilizando a associação de Interferon Peguilado de 40 KDa e Ribavirina em pacientes co-infectados com o HIV, também encontram um VPN para a ausência de redução na carga viral maior ou igual a 2 log₁₀ na semana 12 de terapia de 100% e 98%, respectivamente.

Retomando a discussão sobre o comportamento cinético do VHC e das elevações transitórias encontradas, além da predição precoce, temos claro pelo comportamento de nossos pacientes que o sucesso da terapia se define no início do tratamento, e, como já apresentamos anteriormente, há consonância com a Literatura

nesse sentido, ou seja, a predição precoce e a definição do sucesso da terapia ocorrem nas primeiras horas/dias de tratamento^(2,53). Assim, fora de um contexto de pesquisa eticamente controlada e na ausência de evidências incontestes do benefício do Interferon na redução da progressão da fibrose, nos parece que ante riscos e custos associados à terapia com Interferon Peguilado e Ribavirina em pacientes co-infectados com HIV, será questionável, sob todos esses aspectos, inclusive os éticos, manter o tratamento para pacientes com baixo potencial evolutivo. Em outras palavras, a cinética viral precoce supera todos os outros preditores de resposta e pode ser utilizada de forma individualizada na prática clínica, com pontos bem definidos para quantificação, no manuseio dos pacientes⁽⁵³⁾.

Não obstante sua relevância, ainda permanecem obscuros vários aspectos associados à cinética viral. Comentamos anteriormente os limites dessa abordagem e acreditamos que o fato de não se avaliar sítios extra-hepáticos, se não invalida sua utilização clínica, recomenda a cautela na interpretação dos critérios definidores de “cura”, ou seja, temos que manter a cinética como uma ferramenta de predição de resposta sustentada, não “cura” da Hepatite C. Isso vale não só porque não acessamos os compartimentos extra-hepáticos mas também porque está claro na Literatura⁽⁶¹⁾ que temos vírus viável em sítios extra-hepáticos e que eles mantêm seu potencial de replicação. Se são capazes de acarretar doença, não sabemos, mas é evidente que, principalmente em imunodeprimidos, o risco de re-infecção à partir desses sítios é onipresente.

Outros aspectos que permanecem obscuros estão relacionados à compreensão da farmacocinética e da “bio-cinética” associados à terapia com Interferon Peguilado e Ribavirina. Comentamos anteriormente sobre ambos, e

nossa casuística deixa claro, o quanto não compreendemos desse mosaico de inter-relações parasita-hospedeiro-droga: como explicar as elevações ou padrões lineares precoces que foram descritos, seguidos de uma redução significativa e, então, nova elevação transitória para alguns pacientes na primeira semana de terapia com uma droga administrada sob observação direta e cuja farmacocinética, por exemplo, não permite níveis máximos antes de 80 horas de aplicação e a absorção leva 50 horas?

⁽³³⁾ Os estudos que se antecedem ao nosso, não dispunham de tantos momentos de coleta como nós dispomos (Tabela 79). Dessa forma, o fenômeno que descrevemos é inédito entre os co-infectados com HIV. É evidente que a estimulação de genes associados ao Interferon e efetores celulares em resposta à sua administração devem ser rapidamente mobilizados, mas, como, quando, quais e por que temos elevações transitórias, são perguntas em aberto. As respostas dependem do vírus, da droga, do hospedeiro ou, como imaginamos, de todos esses fatores. Por isso, estudos da cinética do medicamento e da resposta induzida por ele são essenciais. Dessa forma, vamos ampliar nossa avaliação, e, em um momento seguinte, quantificaremos nas nossas amostras de soro congelado o Interferon e alguns de seus marcadores biológicos. Esperamos com isso, ampliar o grau de nossa compreensão sobre os fenômenos observados no estudo da cinética viral em pacientes co-infectados com o HIV e explicar o que hoje só podemos descrever.

CONCLUSÕES

- A eficiência do Interferon (ϵ), a taxa de eliminação de hepatócitos infectados (δ), a taxa de eliminação de vírions livres (c) e a velocidade de eliminação nas Fases 1 e 2 (λ_1 e λ_2) foram superiores para o grupo RVS quando comparado aos RNS e NR, assim como a meia vida dos hepatócitos infectados foi menor para o grupo RVS. O tempo calculado para o início da ação do Interferon (t_0) foi semelhante entre os grupos.
- A comparação dos parâmetros cinéticos obtidos entre os subgrupos genótipo e raça sofreu a interferência de valores isoladamente díspares em um restrito universo de pacientes para análise.
- Nenhum parâmetro cinético foi estatisticamente associado aos desfechos virológicos, genótipos ou raça. A viremia calculada no início da ação do Interferon (V_0) elevada associou-se ao genótipo 1 ($p=0,021$), porém, quando estratificada pelo tipo de desfecho não ($p> 0,05$).
- Os parâmetros cinéticos poderão ser recalculados em conformidade com novas equações matemáticas que corrigem potenciais limitações das equações utilizadas até o momento.

- O padrão cinético diretamente aferido do VHC após o início da terapia com Interferon Peguilado e Ribavirina foi descrito, revelando-se distinto entre os grupos Resposta Viroológica Sustentada, Recidivantes e Não Respondedores.
- Houve uma elevação muito precoce, ou ausência de redução, da carga viral do VHC que antecede a queda da viremia; alguns pacientes podem apresentar elevações de até 1 $\log_{10}$ entre 72 e 96 horas de terapia, não havendo correlação com o genótipo ou tipo de resposta em relação ao fenômeno ($p > 0,05$).
- A causa da elevação transitória deve ser estudada à luz da farmacocinética do Interferon e da dosagem dos efetores da resposta ao Interferon, o que planejamos fazer para nossa casuística.
- A ausência da queda, em relação ao basal, de um $\log_{10}$ na carga viral do VHC com 24 ou 48 horas, além dos dias oito, 29 e semana 12 após o início da terapia possui VPN para RVS de 100%, permitindo a predição muito precoce de não resposta.
- A elevação observada de até um $\log_{10}$ recomenda cautela para a utilização do critério de predição negativa supra-citado entre o terceiro e quarto dia da terapia.

- A ausência da queda, em relação ao basal, de dois $\log_{10}$ na carga viral do VHC no dia oito após o início da terapia possui VPN de 91,67%, enquanto nos dias 29 e semana 12 é de 100%, permitindo a predição muito precoce de não resposta.
- A presença de Resposta Viroológica Precoce (RVP) com redução de 2 $\log_{10}$ no dia 8 e no dia 29 após a terapia, está associada com RVS ($p=0,003$ e $p=0,018$, respectivamente).
- Genótipo 3 associou-se com RVP ($p=0,020$) e com RVS ($p=0,04$). As variáveis gênero, idade, raça, peso, adesão a Ribavirina, CD4, Cirrose e Carga Viral Basal de VHC não se associaram ($p > 0,05$) com os desfechos da terapia. Carga viral de HIV não foi considerada na análise por ser muito baixa nessa casuística.
- A carga viral do HIV nas primeiras 12 semanas da terapia não foi afetada pela terapia baseada em Interferon alfa e Ribavirina.
- A cinética precoce do VHC em pacientes co-infectados com o HIV é uma ferramenta útil para o manuseio clínico dos pacientes sob terapia com Interferon Peguilado alfa 2a e Ribavirina e sua utilização deve ser avaliada em ensaios clínicos maiores para ratificar os achados nesse estudo.

ANEXOS

Tabela 15 - Resposta Viroológica Precoce (RVP)*

RVP	Freq	Percent	Cum.
Ausente	6	23.1	23.1
Presente	20	76.9	100
Total	26	100%	

*Resposta Viroológica Precoce (queda $\geq 2 \log_{10}$ na Semana 12 de terapia)

Tabela 16 - Resposta ao Fim de Terapia (RFT)

RFT	Freq	Percent	Cum.
Ausente	8	30.8	30.8
Presente	18	69.2	100
Total	26	100%	

Tabela 17 - Resposta Viroológica Sustentada (RVS)

RVS	Freq	Percent	Cum.
Ausente	19	73.1	73.1
presente	7	26.9	100
Total	26	100%	

Tabela 18 - Contagem de células CD4

CD4	Freq	Percent	Cum.
≤ 350	1	3.8	3.8
> 350	25	96.2	100
Total	26	100%	

Tabela 19 - Terapia Anti-retroviral

ART	Freq	Percent	Cum.
Ausente	8	30.8	30.8
Vigente	18	69.2	100
Total	26	100%	

ART: terapia anti-retroviral

Tabela 20 - Distribuição do Gênero

SEXO	Freq	Percent	Cum.
Masculino	23	88.5	88.5
Feminino	3	11.5	100
Total	26	100%	

Tabela 21 - Distribuição da Idade

IDADE	Freq	Percent	Cum.
<40	15	57.7	57.7
≥40	11	42.3	100
Total	26	100%	

Tabela 22 - Distribuição racial

RAÇA	Freq	Percent	Cum.
Branco	14	53.8	53.8
Negro	12	46.2	100
Total	26	100%	

Tabela 23 - Distribuição por Peso

PESO	Freq	Percent	Cum.
<75	19	73.1	73.1
≥75	7	26.9	100
Total	26	100%	

Tabela 24 - Distribuição por grau de Fibrose Hepática

CIRROSE	Freq	Percent	Cum.
Ausente	23	88,46	88,46
Presente	3	11,54	100.0
Total	26	100%	

Tabela 25 - Distribuição de Genótipos

GENOTIPO	Freq	Percent	Cum.
1	5	19.2	19.2
1a	6	23.1	42.3
1b	4	15.4	57.7
3a	11	42.3	100
Total	26	100%	

Tabela 26 - Distribuição de Genótipos (1 vs 3)

GENÓTIPO 2	Freq	Percent	Cum.
1	15	57.7	57.7
3	11	42.3	100
Total	26	100%	

Tabela 27 - Tipo de Adesão (Ribavirina)

ADESÃO	Freq	Percent	Cum.
Nenhuma*	5	19.2	19.2
Ruim	1	3.8	23.1
Regular	4	15.4	38.5
Boa	16	61.5	100
Total	26	100%	

* Grupo perda de seguimento.

Tabela 28 - Tipo de Adesão (agrupada)

ADESÃO 2	Freq	Percent	Cum.
ausente/ruim	6	23.1	23.1
regular/boa	20	76.9	100
Total	26	100%	

Tabela 29 - Porcentagens observadas de RVS entre os sexos

Sexo	RVS		Total
	Não	Sim	
Masculino	12	6	18
	66.7%	33.3%	100.0%
Feminino	2	1	3
	66.7%	33.3%	100.0%
Total	14	7	21
	66.7%	33.3%	100.0%

Tabela 30 - Porcentagens observadas de RVS entre as faixas etárias

Faixa etária	RVS		Total
	Não	Sim	
< 40 anos	7	4	11
	63.6%	36.4%	100.0%
≥ 40 anos	7	3	10
	70.0%	30.0%	100.0%
Total	14	7	21
	66.7%	33.3%	100.0%

Tabela 31 - Porcentagens observadas de RVS entre as raças

Raça	RVS		Total
	Não	Sim	
Não branca	6	3	9
	66.7%	33.3%	100.0%
Branca	8	4	12
	66.7%	33.3%	100.0%
Total	14	7	21
	66.7%	33.3%	100.0%

Tabela 32 - Porcentagens observadas de RVS entre as categorias de peso

Peso	RVS		Total
	Não	Sim	
< 75 Kg	10	5	15
	66.7%	33.3%	100.0%
≥ 75 Kg	4	2	6
	66.7%	33.3%	100.0%
Total	14	7	21
	66.7%	33.3%	100.0%

Tabela 33 - Porcentagens observadas de RVS entre as categorias de CD4

CD4	RVS		Total
	Não	Sim	
< 350	1	0	1
	100.0%	0.0%	100.0%
≥ 350	13	7	20
	65.0%	35.0%	100.0%
Total	14	7	21
	66.7%	33.3%	100.0%

Tabela 34 - Porcentagens observadas de RVS entre ter ou não cirrose

Cirrose	RVS		Total
	Não	Sim	
Não	12	7	19
	63.2%	36.8%	100.0%
Sim	2	0	2
	100.0%	0.0%	100.0%
Total	14	7	21
	66.7%	33.3%	100.0%

Tabela 35 - Porcentagens observadas de RVS entre os genótipos

Genótipo	RVS		Total
	Não	Sim	
Tipo I	11	2	13
	84.6%	15.4%	100.0%
Não tipo I	3	5	8
	37.5%	62.5%	100.0%
Total	14	7	21
	66.7%	33.3%	100.0%

Tabela 36. Porcentagens observadas de RVS entre as categorias de carga viral VHC

VHC	RVS		Total
	Não	Sim	
< 850000	6	3	9
	66.7%	33.3%	100.0%
≥ 850000	8	4	12
	66.7%	33.3%	100.0%
Total	14	7	21
	66.7%	33.3%	100.0%

Tabela 38 - Porcentagens observadas de RVP para os sexos

Sexo	Queda na semana 12		Total
	Não	Sim	
Masculino	6	17	23
	26,08%	73,91%	100.0%
Feminino	0	3	3
	0.0%	100.0%	100.0%
Total	6	20	26
	23,07%	76,92%	100.0%

Tabela 39 - Porcentagens observadas de RVP para as faixas etárias

Faixa etária	Queda na semana 12		Total
	Não	Sim	
< 40 anos	4	11	15
	26,66%	73,33%	100.0%
>= 40 anos	2	9	11
	18,18%	81,81%	100.0%
Total	6	20	26
	23,07%	76,92%	100.0%

Tabela 40. Porcentagens observadas de RVP para as raças

Raça	Queda na semana 12		Total
	Não	Sim	
Não branca	2	10	12
	16,66%	83,33%	100.0%
Branca	4	10	14
	28.6%	71.4%	100.0%
Total	6	20	26
	23,07%	76,92%	100.0%

Tabela 41 - Porcentagens observadas de RVP para as categorias de peso

Peso	Queda na semana 12		Total
	Não	Sim	
< 75 Kg	5	14	19
	26,31%	73,68%	100.0%
>= 75 Kg	1	6	7
	14.3%	85.7%	100.0%
Total	6	20	26
	23,07%	76,92%	100.0%

Tabela 42 - Porcentagens observadas de RVP para as categorias de CD4

CD4	Queda na semana 12		Total
	Não	Sim	
< 350	0	1	1
	0.0%	100.0%	100.0%
≥ 350	6	19	25
	24%	76%	100.0%
Total	6	20	26
	23,07%	76,92%	100.0%

Tabela 43 - Porcentagens observadas de RVP para ter ou não cirrose

Cirrose	Queda na semana 12		Total
	Não	Sim	
Não	7	16	23
	30,43%	69,56%	100.0%
Sim	0	3	3
	0.0%	100.0%	100.0%
Total	7	19	26
	26,92%	73,07%	100.0%

Tabela 44 - Porcentagens observadas de RVP para os genótipos

Genótipo	Queda na semana 12		Total
	Não	Sim	
Tipo I	5	10	15
	33,33%	66,66%	100.0%
Não tipo I	0	11	11
	0.0%	100.0%	100.0%
Total	5	21	26
	19,23%	80,76%	100.0%

Tabela 45 - Porcentagens observadas de RVP para as categorias de VHC

VHC	Queda na semana 12		Total
	Não	Sim	
< 850000	1	8	9
	11,11%	88,88%	100.0%
>= 850000	5	12	17
	29,41%	70,58%	100.0%
Total	6	20	26
	23,07%	76,92%	100.0%

Gráficos do Decaimento do VHC expressos em Log

Pacientes com Resposta Viroológica Sustentada (RVS):

RVS 3 VHC zero a sem 12 (Log)

RVS 3 VHC zero a Dia 4 (Log)

RVS 3 VHC zero a Dia 29 (Log)

RVS 4 VHC zero a Semana 12 (Log)

RVS 4 VHC zero a Dia 4 (Log)

RVS 4 VHC zero a Dia 29 (Log)

RVS 5 VHC zero a Semana 12 (Log)

RVS 5 VHC zero a Dia 4 (Log)

RVS 5 VHC zero a Dia 29 (Log)

RVS 6 VHC zero a Semana 12 (Log)

RVS 6 VHC zero a Dia 4

RVS 6 VHC zero a D29

RVS 7 VHC zero a Semana 12 (Log)

RVS 7 VHC zero a D4 (Log)

RVS 7 VHC zero a D29 (Log)

Pacientes com Resposta Virológica Não Sustentada (RNS)

RNS 1 VHC zero a Semana 12 (Log)

RNS 1 VHC zero a Dia 4 (Log)

RNS 1 VHC zero a Dia 29 (Log)

RNS 2 VHC zero a Semana 12 (Log)

RNS 2 VHC zero a Dia 4 (Log)

RNS 2 VHC zero a Dia 29 (Log)

RNS 3 VHC zero a Semana 12 (Log)

RNS 3 VHC zero a Dia 4 (Log)

RNS 3 VHC zero a Dia 29 (Log)

RNS 4 VHC zero a Semana 12 (Log)

RNS 4 VHC zero a Dia 4 (Log)

RNS 4 VHC zero a Dia 29 (Log)

RNS 5 VHC zero a Semana 12 (Log)

RNS 5 VHC zero a Dia 4 (Log)

RNS 5 VHC zero a Dia 29 (Log)

RNS 6 VHC zero a Semana 12 (Log)

RNS 6 VHC zero a Dia 4 (Log)

RNS 6 VHC zero a Dia 29 (Log)

RNS 7 VHC zero a Semana 12

RNS 7 VHC zero a Dia 4 (Log)

RNS 7 VHC zero a Dia 29

RNS 8 VHC zero a Semana 12 (Log)

RNS 8 VHC zero a Dia 4

RNS 8 VHC zero a Dia 29 (Log)

RNS 9 VHC zero a Semana 12 (Log)

RNS 9 VHC zero a Dia 4 (Log)

RNS 9 VHC zero a Dia 29 (Log)

RNS 10 VHC zero a Semana 12 (Log)

RNS 10 VHC zero a Dia 4 (Log)

RNS 10 VHC zero a Dia 29 (Log)

RNS 11 VHC zero a Semana 12 (Log)

RNS 11 VHC zero a Dia 4

RNS 11 VHC zero a Dia 29 (Log)

Pacientes Não Respondedores (NR)

NR 1 VHC zero a Semana 12 (Log)

NR 1 VHC zero a Dia 4 (Log)

NR 1 VHC zero a Dia 29 (Log)

NR 2 VHC zero a Semana 12 (Log)

NR 2 VHC zero a Dia 4 (Log)

NR 2 VHC zero a Dia 29 (Log)

NR3 VHC zero a Semana 12 (Log)

NR3 VHC zero a Dia 4 (Log)

NR3 VHC zero a Dia 29 (Log)

Gráficos do Decaimento VHC em UI/ml

Grupo RVS

Grupo RNS

Grupo NR

REFERÊNCIAS

1. Agresti A Categorical Data Analysis. New York: Wiley; 1990.
2. Ballesteros AL, Fuster D, Planas R, Clotet B, Tural C. Role of viral kinetics under HCV therapy in HIV/HCV-coinfected patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2005 June; 55(6):824-827.
3. Ballesteros AL, Franco SA, Fuster D, Planas, RB, Martinez MA, Acosta L et al. Early HCV dynamics on Peg-Interferon and Ribavirin in HIV/HCV co-infection: indications for the investigation of new treatment approaches. *AIDS* 2004 Jan; 18(1):59-66.
4. Bekkering FC, Neumann AU, Brouwer JT, Levi-Drummer RS, Schalm SW. Changes in anti-viral effectiveness of interferon after dose reduction in chronic hepatitis C: a case-control study. *BMC Gastroenterology* 2001 Dec; 1:14.
5. Bertoletti A, Ferrari C. Kinetics of the Immune Response during HBV and HCV infection. *Hepatology* 2003 July; 38(1):4-13.
6. Blackard JT, Smeaton L, Hiasa Y, Onji M, Jamieson DJ, Rodriguez I et al. Detection of Hepatitis C Virus (HCV) in Serum and Peripheral-Blood Mononuclear Cells from HCV-Monoinfected and HIV/HCV-Coinfected Persons. *The Journal of Infectious Diseases* 2005 July 15; 192(2):258-265.
7. Bonacini M. Liver injury during highly active antiretroviral therapy: the effect of hepatitis C coinfection. *Clinical Infectious Diseases* 2004 Mar 1; 38 Suppl 2:S104-108.

8. Bonacini M, Louie S, Bzowej N, Wohl AR. Survival in patients with HIV infection and viral hepatitis B or C: a cohort study. *AIDS* 2004 Oct; 18(15):2039-2045.
9. Bowen DG, Walker CM. Adaptative immune responses in acute and chronic hepatitis C vírus infection. *Nature* 2005 Aug 18; 436(7053):946-952.
10. Bruno R, Sacchi P, Puoti M, Soriano V, Filice G. HCV chronic hepatitis in patients with HIV: clinical management issues. *American Journal of Gastroenterology* 2002 July; 97(7):1598-1606.
11. Canchis PW, Yee HT, Fiel MI Dieterich, DT, Liu, R-C, Chiriboga, L et al. Intrahepatic CD4+ Cell Depletion in Hepatitis C Virus/HIV Coinfected Patients. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* 2004 Sep 1; 37(1):1125-1131.
12. Carrat F, Bani-Sadr F, Pol S, Rosenthal E, Lunel-Fabiani F, Benzekri A et al. for The ANRS Hco2 Ribavir Study Team. Pegylated Interferon Alfa-2b vs Standard Interferon Alfa-2b, Plus Ribavirin, for Chronic Hepatitis C in HIV-Infected Patients: A Randomized Controlled Trial. *JAMA* 2004 Dec 15; 292(23):2839-2848.
13. Chung RT, Andersen J, Volberding P, Robbins GK, Liu T, Sherman KE et al. Peginterferon Alfa-2a plus Ribavirin versus Interferon Alfa-2a plus Ribavirin for Chronic Hepatitis C in HIV-Coinfected Persons. *New England Journal of Medicine*, Aug 2004; 351(5):451-459.
14. Conover WJ. Practical nonparametric statistics. 2nded. New York: Wiley; 1990.

15. Feld JJ, Hoofnagle JH. Mechanism of action of interferon and ribavirin in treatment of hepatitis C. *Nature* Aug 2005; 436(7053):967-972.
16. Ferenci P. Predicting the therapeutic response in patients with chronic hepatitis C: the role of viral kinetic studies. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* Jan 2004;53(1):15-18.
17. Foster GR. Pegylated interferons: chemical and clinical differences. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* Oct 2004; 20(8):825-830.
18. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Goncales Jr FL al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C vírus infection. *New England Journal of Medicine* 2002 Sep 26; 347(13):975-982.
19. Fukutomi T, Nakamuta M, Fukutomi M, Iwao M, Watanabe H, Hiroshige K et al. Decline of hepatitis C virus load in serum during the first 24 h after administration of interferon-beta as a predictor of the efficacy of therapy. *Journal of Hepatology* Jan 2001; 34(1):100-107.
20. Furione M, Maserati R, Gatti M, Baldanti F, Cividini A, Bruno R et al. .Dissociation of Serum and Liver Hepatitis C Vírus RNA levels in patients coinfectd with Human Immunodeficiency Vírus and treated with anti-retroviral drugs. *Journal of Clinical Microbiology* 2004; 42(7):3012-3016.
21. Gale JR M, Foy EM Evasion of intracellular host defence by hepatitis C vírus. *Nature* 2005 Aug 18; 436(7053):939-945.

22. Gayotto LC e Comitê SBP-SBH Visão histórica e consenso nacional sobre a classificação das hepatites crônicas. Projeto do Clube de Patologia Hepática da Sociedade Brasileira de Patologia aprovado pela Sociedade Brasileira de Hepatologia. GED: Gastroenterologia Endoscopia Digestiva 2000; 19:137-140.
23. Graham C, Wells A, Liu T, Sherman K, Peters M, Chung R et al. Relationships between Hepatitis C Virus-Specific Immune responses and outcomes of treatment with Interferon and Ribavirin in HIV/HCV co-infection [Oral abstracts]. Program and Abstracts of the 11th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2004 Feb 8-11; San Francisco, USA.
24. Herrmann E, Lee J-H, Marinos G, Modi M, Zeuzem, S. Effect of ribavirin on hepatitis C viral kinetics in patients treated with pegylated interferon. Hepatology 2003 June; 37(6):1351-1358.
25. Herrmann E, Neumann AU, Schmidt JM, Zeuzem S. Hepatitis C vírus kinetics. Antiviral Therapy 2000 June; 5(2):85-90.
26. Herrmann E, Sarrazin C. Hepatitis C viral kinetics. Journal of Gastroenterology and Hepatology 2004 Dec; 19 Suppl 7:S133-S137.
27. Ho DD. Dynamics of HIV-1 Replication In Vivo. Journal of Clinical Investigation 1997 June; 99(1):2565-2567.
28. Jeffers LJ, Cassidy W, Howell CD, Hu S, Reddy KR. Peginterferon Alfa-2a (40 kd) and Ribavirin for Black American Patients With Chronic HCV Genotype 1. Hepatology 2004 June; 39(6):1702-1708.

29. Jessner W, Stauber R, Hackl F, Datz C, Watkins-Riedel T, Hofer H et al. Early viral kinetics on treatment with pegylated interferon- α -2a in chronic hepatitis C virus genotype 1 infection. *Journal of Viral Hepatitis* 2003 Jan; 10(1):37-42.
30. Jessner W, Watkins-Riedel T, Formann E, Steindl-Munda P, Ferenci, P Hepatitis C viral dynamics: basic concept and clinical significance. *Journal of Clinical Virology* 2002 Dec; 25 Suppl 3:S31-S39.
31. Ji X, Cheung R, Cooper S, Li Q, Greenberg HB, He X-S Interferon Alfa Regulated Gene Expression in Patients Initiating Interferon Treatment for Chronic Hepatitis C. *Hepatology* 2003 Mar; 37(3):610-621.
32. Karandikar N, Pillai V, Lee W, Thiele D. Successful antiviral therapy reverses suppression of antiviral t-cell responses in chronic HCV infection [Abstract P-233]. Abstract book of the 12th International Symposium on Hepatitis C and Related Viruses; 2005 Oct 2-6; Montreal, Canada. p.222.
33. Keeffe EB. Peginterferons in Hepatitis C Virus: Virological, Pharmacokinetic, and Clinical Implications. *Seminars in Liver Disease* 2003; 23 Suppl 1:1-2.
34. Laguno M, Murillas J, Blanco JL, Martinez E, Miquel RA, Sanchez-Tapias JMB et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of HIV/HCV co-infected patients. *AIDS* 2004 Sep;. 18(13):27-36.
35. Layden JE, Layden TJ How can Mathematics help us understand HCV? [Editorial]. *Gastroenterology* 2001 May; 120(6):1546-1549.

36. Layden JE, Layden TJ, Reddy KR, Levy-Drummer RS, Poulakos J, Neumann A. First phase viral kinetic parameters as predictors of treatment response and their influence on the second phase viral decline. *Journal of Viral Hepatitis* 2002 Sep; 9(5):340-345.
37. Layden JE, Neumann AU, Layden TJ. Authors' reply: first-phase parameters in hepatitis C viral kinetics [Letter to Editor]. *Journal of Viral Hepatitis* 2002 Nov; 9(6):466.
38. Layden TJ, Layden JE, Ribeiro RM, Perelson AS. Mathematical modeling of viral kinetics: a tool to understand and optimize therapy. *Clinical Liver Diseases* 2003 Feb; 7(1):163-178.
39. Layden-Almer JE, Kuiken C, Ribeiro RM, Kunstman KJ, Perelson AS, Layden TJ et al. Hepatitis C virus genotype 1a NS5A pretreatment sequence variation and viral kinetics in African American and white patients. *The Journal of Infectious Diseases* 2005 Sep; 192(6):1078-1087.
40. Layden-Almer JE, Ribeiro RM, Wiley T, Perelson AS, Layden TJ. Viral dynamics and response differences in HCV-infected African American and white patients treated with IFN and ribavirin. *Hepatology* 2003 June; 37(6):1343-1350.
41. Layden-Almer JE, Layden TJ. Viral kinetics in Hepatitis C virus: special patient populations. *Seminars in Liver Disease* 2003; 23 Suppl 1:29-34.
42. Lee W, Dieterich D. Challenges in the management of HIV and hepatitis C virus co-infection. *Drugs* 2004; 64(7):693-700.

-
43. Lee WM, Dienstag JL, Lindsay KL, Lok AS, Bonkovsky HL, Shiffman ML. Evolution of the HALT-C Trial: pegylated interferon as maintenance therapy for chronic hepatitis C in previous interferon nonresponders. *Controlled Clinical Trials* 2004 Oct; 25(5):472-492.
44. Levy-Drummer R, Rozenberg L, Haagmans B, Ferenci P, Bain V, Neumann AU. Anti-Viral sensitivity as function of pharmacodynamics and its correlation with SVR in chronic hepatitis C patients treated with PEG-IFN-A2B or Albuferon. [OP 05]. Abstracts book of the 12th International Symposium on Hepatitis C and Related Viruses; 2005 Oct 2-6; Montreal, Canada. p.6
45. Lutchman G, Hoofnagle JH Viral kinetics in hepatitis C. *Hepatology* 2003 June; 37(6):1257-1259.
46. Manns MP, McHutchinson JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman M, Reindolar 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 Sep 22; 358(9286):958-965.
47. The METAVIR Cooperative Study Group, Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. *Hepatology* 1996 Aug; 24(2):289-293.
48. Miller CL, Wood E, Spittal PM, Li K, Frankish, J, Braitstein, P et al. The Future Face of Coinfection Prevalence and Incidence of HIV and Hepatitis C Virus Coinfection Among Young Injection Drug Users. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* 2004 June 1; 36(2):743–749.

-
49. Moreno A, Garcia-Gárzon S, Moreno L, Bárcena R, Quereda C, Mateos ML et al. Viral Kinetics and early prediction of non-response to pegylated-IFN-alfa-2b and Ribavirin in HCV genotypes 1/4 according to HIV serostatus [Abstract 820-Poster]. Program and Abstracts of the 11th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2004; San Diego, USA.
 50. Müller V, Marée AFM, De Boer RJ Release of vírus from lymphoid tissue affects Human Immunodeficiency Virus type 1 and Heptitis C Vírus kinetics in the blood. *Journal Of Virology* 2001 Mar; 75(6):2597-2603.
 51. Netea MG, Van Der Meer JWM, Sutmuller RP, Adema GJ, Kullberg B-J From the Th1/Th2 Paradigm towards a Tool-Like Receptor/T-Helper Bias. *Antimicrobial Agents and Chemoterapy* 2005 Oct; 49(10):3991-3996.
 52. Neter J, Kutner MH, Nachtshiem CJ, Wasserman W *Applied Linear Statistical Models*. 4. ed. Illinois: Richard D.Irwing; 1996.
 53. Neumann AU et al. Early viral kinetics prediction of sustained virological response after 1 or 4 weeks of Peg-Interferon alfa 2a and Ribavirin therapy – DITTO-HCV Project [Abstract 317-poster]. Program and Abstracts of the Annual Meeting of the 54th American Association for the Study of Liver Diseases; 2003 Oct 24-28; Boston, USA.
 54. Neumann AU, Lam NP, Dahari H, Gretch DR, Wiley TE, Layden TJ et al. Hepatitis C Viral Dynamics in Vivo and the Antiviral Efficacy of Interferon- α therapy. *Science* 1998 Oct; 282(5386):103-7.

-
55. Neumann-Haefelin C, Blum HE, Chisari FV, Thime R. T Cell response in hepatitis C vírus infection. *Journal of Clinical Virology* 2005 Feb; 32(2):75-85.
 56. Nguyen TT, Sedghi-Vaziri A, Wilkes LB, Mondala T, Pockros PJ, Lindsay KL et al. Flutuactons in viral load (HCV RNA) are relatively insignificant in untreated patients with chronic HCV infection. *Journal of Viral Hepatitis* 1996 Mar; 3(2):75-8.
 57. Nisole S, Stoye JP, Saïb A. TRIM family proteins: retroviral restriction and antiviral defence. *Nature Reviews Microbiology* 2005 Oct 1; 3:799-808.
 58. Pawlotsky J-M. Diagnostic Testing in Hepatitis C Virus Infection: Viral Kinetics and Genomics. *Seminars in Liver Disease* 2003; 23 Suppl 1:3-11.
 59. Pawlotsky JM, Chevaliez S, Brillet R, Hezode C, Dhumeaux D. Assestment of Ribavirin mutagenic properties in vivo and the influence of interferon alpha-induced reduction of hepatitis C vírus RNA load upon therapy [OP 14]. Abstract book of the 12th International Symposium on Hepatitis C and Related Virus; 2005 Oct 2-6; Montreal, Canada. p.12
 60. Perelson AS, Herrmann E, Micol F, Zeuzem S. New Kinetic Models for the Hepatitis C Vírus. *Hepatology* 2005 Oct; 42(4):749-754.
 61. Pham TNQ, MacParland SA, Mulrooney PM, Cooksley H, Naoumov NV, Michalak TI. Hepatitis C Virus Persistence after spontaneous or treatment-induced resolution of Hepatitis C. *Journal of Virology* 2004 June; 78(11):5867-5874.

-
62. Powers KABA, Dixit NM, Ribeiro RM, Golia P, Talal AH, Perelson AS. Modeling Viral and Drug Kinetics: Hepatitis C Virus Treatment with Pegylated Interferon Alfa-2b. *Seminars in Liver Disease* 2003; 23 Suppl 1:13-8.
63. Poynard T, Schiff E, Terg R, Udaondo B, McHutchison J, Hopf U et al. High Early Viral Response (EVR) With Peg-Intron/Rebetol (PR) Weight Based Dosing (WBD) In Previous Interferon/Ribavirin HCV Treatment Failures; Early Results of The Epic³ Trial. [Abstract 170-poster]. In: 55th AASLD; 2004 Oct 29-Nov 2; Boston, USA.
64. Puoti M, Gargiulo F, Roldan EQ, Chiodera A, Palvarini L, Spinetti A, et al. Liver damage and kinetics of Hepatitis C Virus and Human Immunodeficiency Virus replication during the early phases of combination antiretroviral treatment. *The Journal of Infectious Diseases*, 2000 June; 181(6): 2033-6.
65. Qurishi N, Kreuzberg C, Luchters G, Effenberger W, Kupfer B, Sauerbruch T et al. Effect of antiretroviral therapy on liver-related mortality in patients with HIV and hepatitis C virus coinfection. *Lancet* 2003 Nov 22; 362(9397):1708–13.
66. Ribeiro RM, Layden-Almer J, Powers KA, Layden TJ, Perelson AS. Dynamics of alanine aminotransferase during hepatitis C virus treatment. *Hepatology* 2003 Aug; 38(2):509-17.
67. Rockstroh JK, Spengler S. HIV and hepatitis C virus co-infection. *Lancet Infectious Diseases* 2004 July; 4(7):437-44.
68. Rosen HR, Ribeiro RR, Weinberger L, Wolf S, Chung M, Gretch DR et al. Early hepatitis C viral kinetics correlate with long-term outcome in patients receiving

- high dose induction followed by combination interferon and ribavirin therapy. *Journal of Hepatology* 2002 July; 37(1):124-30.
69. Rullier A, Trimoulet P, Neau D, Bernard P-H, Foucher J, Lacoste D et al. Fibrosis is worse in HIV-HCV patients with low-level immunodepression referred for HCV treatment than in HCV-matched patients. *Human Pathology* 2004 Sep; 35(9):1088-94.
70. Sallie R. Replicative homeostasis II: Influence of polymerase fidelity on RNA virus quasispecies biology: Implications for immune recognition, viral autoimmunity and other "virus receptor" diseases. *Virology Journal* [serial online] 2005; 2:70]. Available from URL:<http://www.virologyj.com/content/2/1/70>
71. Sherman KE, Shire NJ, Rouster SD, Peters MG, Koziel MJ, Chung RT. Viral kinetics in hepatitis C or hepatitis C/human immunodeficiency virus-infected patients. *Gastroenterology* 2005 Feb; 128(2):313-27.
72. Shire NJ et al. Viral Kinetic Modeling in HIV/HCV Co-infected hemophiliacs treated with pegylated interferon and ribavirin. Abstract 823 [pôster]. Program and Abstracts of the 11th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2004 Feb 8-11; San Francisco, USA.
73. Shudo E, Ribeiro R, Perelson A. Hepatitis C Vírus Kinetics During Treatment With Pegylated Interferon Alpha-2B : Possible Errors in Estimation of Parameters [OP 06]. Abstract book of the 12th International Symposium on Hepatitis C and Related Virus; 2005 Oct 2-6; Montreal, Canada. p.6

-
74. Solomon L, Flynn C, Muck, K, Vertefeuille J. Prevalence of HIV, Syphilis, Hepatitis B and Hepatitis C among entrants to Maryland correctional facilities. *Journal of Urban Health* 2004 Mar; 81(1):25-37.
75. Soriano V, Miro JM, Garcia-Samaniego J, Torre-Cisneros J, Núñez M, del Romero J et al. et al. Consensus conference on chronic viral hepatitis and HIV infection: updated Spanish recommendations. *Journal of Viral Hepatitis* 2004 Jan; 11(1):2-17.
76. Soriano V, Puoti M, Sulkowski M, Mauss, S, Cacoub P, Cargnel, A et al. Care of patients with hepatitis C and HIV co-infection. *AIDS* 2004 Jan 2; 18(1):1-12.
77. Sulkowski MS, Mast EE, SEEF LB. Hepatitis C Virus as an opportunistic disease in persons infected with Human Immunodeficiency Virus. *Clinical Infectious Diseases* 2000 Apr; 30 Suppl 1:S77-S84.
78. Talal AH, Tarek SM, Markatou M, Dorante G, Chadburn A, Koch R et al. Virus dynamics and immune responses during treatment in patients coinfecting with hepatitis C and HIV. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* 2004 Feb 1; 35(2):103-113.
79. Taylor DR, Puig M, Darnell MER, Mihalic K, Feinstone SM. New antiviral pathway that mediates Hepatitis C Virus Replicon Interferon sensitivity through ADAR1. *Journal of Virology* 2005 May; 79 (10): 6291-6298.
80. Taylor M, Schaley J, Edenberg H, Tsukahara T, Rubinstein A, Stephens M. Distinct differences in gene response between patients resistant to

- Interferon/Ribavirin therapy and those showing early vírus clearance [Oral Presentation 1]. Abstract book of the 11th International Symposium on Hepatitis C Vírus and Related Viruses; 2004; Heidelberg, Germany. p.5
81. Torriani FJ, Ribeiro RM, Gilbert TL, Schrenk UM, Clauson M, Pacheco DM et al. Hepatitis C Virus (HCV) and Human Immunodeficiency Virus (HIV) dynamics during HCV treatment in HCV/HIV coinfection. *The Journal of Infectious Diseases* 2003 Nov; 188(10):1498-507.
82. Torriani FJ, Rodriguez-Torres M, Rockstroh JK, Lissen E, Gonzalez-Garcia J, Lazzarin A et al. Peginterferon Alfa-2a plus Ribavirin for Chronic Hepatitis C Virus Infection in HIV-Infected Patients. *New England Journal of Medicine* 2004 July; 351(5):438-50.
83. Weber F, Kochs G, Haller O. Inverse interference: how viruses fight the interferon system. *Viral Immunology* 2004 Dec; 17(4):498-515.
84. Wieland SF, Chisari FV. Stealth and Cunning: Hepatitis B and Hepatitis C Viruses. *Journal of Virology* 2005 Aug; 79(15):9369-9380.
85. Winnock M, Salmon-Ceron D, Dabis F, Chene G Interaction between HIV-1 and HCV infections: towards a new entity? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2004 June; 53(6):936-46.
86. Zeuzem S. Favourable and disappointing lessons from viral kinetics [Editorial]. *Journal of Hepatology* 2002 July; 37(1):151-3.

87. Zeuzem S, Herrmann E. First-phase parameters in hepatitis C viral kinetics. *Journal of Viral Hepatitis* 2002 Sep; 9(5):332-3.
88. Zeuzem S, Herrmann E, Lee J-H, Fricke J, Neumann AU, Modi M et al. Viral Kinetics in Patients With Chronic Hepatitis C Treated With Standard or Peginterferon α 2a. *Gastroenterology* 2001 May; 120(6):1438-47.
89. Zeuzem S, Schmidt JM, Lee J, Ruster B, Roth WK. Effect of interferon alfa on the dynamics of hepatitis C virus turnover in vivo. *Hepatology* 1996 Feb; 23(2): 366-71.
90. Zeuzem S, Welsch C, Herrmann E. Pharmacokinetics of Peginterferons. *Seminars in Liver Disease* 2003; 23 Suppl 1:23-8.