LYDIA TEÓFILO DE MORAES FALCÃO

**Estudo randomizado de cloroquina *versus*
azatioprina, em associação com prednisona,
no tratamento da hepatite autoimune**

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

Programa de Ciências em Gastroenterologia

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Luiz Rachid
Cançado

São Paulo

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Falcão, Lydia Teófilo de Moraes
Estudo randomizado de cloroquina versus
azatioprina, em associação com prednisona, no
tratamento da hepatite autoimune / Lydia Teófilo de
Moraes Falcão. -- São Paulo, 2018.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Ciências em Gastroenterologia.
Orientador: Eduardo Luiz Rachid Cançado.

Descritores: 1.Hepatite autoimune 2.Cloroquina
3.Antimalárico 4.Indução de remissão completa
5.Fígado 6.Imunossupressão

USP/FM/DBD-194/18

Responsável: Kátia Maria Bruno Ferreira - CRB-8/6008

ficha catalográfica (imprimir pdf original)

DEDICATÓRIA

Eis que foi uma longa jornada até a chegada deste momento. Dedico esta tese aos **meus pais**, que foram meu alicerce, que me estimularam a vencer cada obstáculo. Ao **meu esposo, Guilherme Almeida**, obrigada por ter vivido meus anseios e por me impulsionar a atingir meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

Agradeço à toda equipe do Ambulatório de Hepatite autoimune do HC-FMUSP pelo acolhimento e pelas experiências e aprendizados compartilhados. Em especial à Dra. Débora R. B. Terrabuio por ter participado da construção da tese e ao meu orientador, Prof. Dr. Eduardo L.R. Cançado, por ter contribuído com meu amadurecimento e crescimento profissional.

Agradeço ao estatístico Márcio Diniz, que mesmo após sua ida aos Estados Unidos, forneceu as análises necessárias para a finalização da tese.

Agradeço à minha banca de qualificação do mestrado, Profa. Dra. Claudia Oliveira, Dr. Daniel Mazzo e Dra. Suzane Ono, por acreditarem neste projeto terem possibilitado a mudança para doutorado direto.

Normalização Adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, Divisão de Biblioteca e Documentação, Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A.L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3^a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas

Lista de Tabelas

Lista de Figuras e Gráficos

Resumo

Abstract

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Hepatite autoimune: características gerais	2
1.2 Tratamento da hepatite autoimune	6
1.2.1 Tratamento padrão	8
1.2.2 Tratamentos alternativos	10
1.2.2.1 Budesonida	11
1.2.2.2 Micofenolato	12
1.2.2.3 Inibidores de calcineurina: Ciclosporina e Tacrolimus.....	13
1.2.2.4 Inibidores alvo da rapamicina de mamíferos (mTOR)	15
1.2.2.5 Ácido ursodesoxicólico	15
1.2.2.6 Outras terapias alternativas.....	16
1.3 Uso dos antimaláricos nas doenças reumatológicas autoimunes	18
1.4 Uso de cloroquina e hidroxicloroquina em doenças hepáticas	23
2 OBJETIVOS	26
2.1 Objetivo primário	27
2.2 Objetivos secundários	27
3 MÉTODOS	28
3.1 Desenho do estudo	29
3.2 Seleção da casuística	29
3.2.1 Critérios de inclusão	29
3.2.2 Critérios de exclusão	30
3.3 Randomização	30
3.4 Intervenções	31
3.5 Critérios de interrupção do tratamento.....	32
3.6 Desfechos e avaliação de resposta ao tratamento	32

3.6.1 Desfecho primário.....	32
3.6.2 Desfechos secundários	33
3.7 Aspectos éticos.....	34
3.8 Aspectos revisados nos prontuários médicos	34
3.8.1 Dados clínicos	34
3.8.2 Exames complementares	35
3.9 Análise Estatística.....	36
3.9.1 Tamanho amostral.....	36
3.9.2 Análise das variáveis	36
4 RESULTADOS.....	38
4.1 Características gerais dos participantes do estudo.....	39
4.2 Desfecho primário	39
4.3 Desfechos secundários.....	46
4.4 Avaliação da segurança e de efeitos adversos.....	46
4.5 Seguimento dos participantes após saída do protocolo	49
5 DISCUSSÃO	52
6 CONCLUSÃO	63
7 ANEXOS	65
Anexo 1 - Critérios Diagnósticos Modificados da HAI pelo Grupo Internacional da Hepatite Autoimune	66
Anexo 2 - Estadiamento das hepatites crônicas de acordo com os critérios de da Sociedade Brasileira de Patologia	67
Anexo 3 - Aprovação da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq)	68
Anexo 4 - Participantes com remissão histológica prévia ao estudo que recidivaram após suspensão da imunossupressão	69
Anexo 5 - Classificação da reação adversa a medicamento, de acordo com o Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE)	70
8 REFERÊNCIAS.....	71

LISTAS

LISTA DE ABREVIATURAS

AASLD	Associação Americana para o Estudo de Doenças do Fígado
ALT	Alanina aminotransferase
AML	Anticorpo antimúsculo liso
Anti-LC1	Anticorpo anticitosol hepático tipo 1
Anti-LKM1	Anticorpo antimicrosomal fígado-rim tipo 1
Anti-SLA/LP	Anticorpo antiantígeno hepático solúvel fígado-pâncreas
APC	Célula apresentadora de antígeno
AST	Aspartato aminotransferase
AUDC	Ácido ursodesoxicólico
AZA	Azatioprina
CaPPesq	Comissão para Análise de Projetos de Pesquisa
CQ	Difosfato de cloroquina
CTCAE	<i>Common Terminology Criteria for Adverse Events</i>
EASL	Associação Européia para Estudo do Fígado
FA	Fosfatase alcalina
FAN	Fator antinuclear
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FK 506	Tacrolimus
FKBP-12	<i>FK-binding protein isoenzyme 120</i>
GGT	Gamaglutamiltranspeptidase
HAI	Hepatite autoimune
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HLA	Antígeno leucocitário humano
IC	Intervalo de confiança
IFN γ	Interferon gama
IgG	Imunoglobulina G
IL	Interleucina
INR	Índice internacional normatizado
LDL	Lipoproteína de baixa densidade

MHC	Complexo maior de histocompatibilidade
m-TOR	Receptor alvo da rapamicina de mamíferos
NK	<i>Natural Killer</i>
p-ANCA	Anticorpo anticitoplasma de neutrófilos, padrão perinuclear
PD	Prednisona
RB	Remissão bioquímica
RH	Remissão histológica
SBH	Sociedade Brasileira de Hepatologia
SBP	Sociedade Brasileira de Patologia
TLR	<i>Receptor Toll-like</i>
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
Treg	Linfócito T regulatório
VN	Valor normal
α -TTP	Proteína de transferência do α -tocoferol

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Características clínico-laboratoriais de entrada dos participantes no estudo.....	40
Tabela 2 -	Avaliação da remissão bioquímica e histológica nos grupos de estudo, com doses de prednisona nas remissões.....	42
Tabela 3 -	Evolução da atividade inflamatória periportal nos pacientes submetidos à biópsia hepática antes e após o tratamento.....	44
Tabela 4 -	Reações adversas às drogas de estudo, de acordo com a classificação CTCAE.....	47
Tabela 5 -	Comorbidades dos participantes do estudo durante o estudo, possivelmente relacionadas ao uso de prednisona....	48
Tabela 6 -	Evolução dos pacientes que saíram do estudo por falha terapêutica ou efeito adverso, com a nova terapia administrada	49

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

Figura 1 -	Mecanismo de lesão hepática na hepatite autoimune	6
Figura 2 -	Ação dos antimaláricos na via de resposta imunomediada pelos TLRs.....	21
Figura 3 -	Diagrama de fluxo de pacientes randomizados no estudo.....	41
Figura 4 -	Análise pós-protocolo dos pacientes que não obtiveram remissão histológica com prednisona e azatioprina no estudo	51
Figura 5 -	Análise pós-protocolo dos pacientes que não obtiveram remissão histológica com prednisona e azatioprina no estudo	51
Gráfico 1 -	Curva de remissão completa no período máximo de até três anos em uso das drogas do protocolo	43
Gráfico 2 -	Avaliação da remissão bioquímica e histológica dos participantes virgens de tratamento e dos recidivantes	45

RESUMO

Falcão LTM. *Estudo randomizado de cloroquina versus azatioprina, em associação com prednisona, tratamento da hepatite autoimune* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2018.

Contexto: O tratamento da hepatite autoimune (HAI) composto por prednisona e azatioprina proporciona melhora clínico-laboratorial em até 90% dos pacientes. Entretanto, a remissão completa não é alcançável na maioria dos casos. Cloroquina é um antimalárico utilizado no tratamento de doenças reumatológicas autoimunes e em estudo aberto de manutenção da remissão da HAI foi sugerido menor risco de recidiva da doença com o uso da droga. **Objetivos:** Avaliar o uso da cloroquina em associação à prednisona no tratamento da HAI em estudo randomizado. **Métodos:** 57 pacientes com indicação de tratamento da HAI foram randomizados para receber azatioprina ou cloroquina associadas à prednisona, de 2003 a 2012. Para os que mantiveram normalização das transaminases por 18 meses, biópsia hepática foi realizada para avaliação histológica. O desfecho primário foi a remissão completa ao tratamento, composta por remissão bioquímica e histológica da doença. O valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. **Resultados:** Não houve diferença entre os grupos quanto às características clínicas, sorológicas, histológicas e de tratamento prévio, ao início do estudo. A idade média foi de $37,2 \pm 16,84$ anos, 43,8% com fibrose avançada (F3/4) no início do estudo. Não houve diferença estatística na taxa de resposta bioquímica (67% vs. 53,8%, $p=0,413$) ou histológica (32,2% vs. 15,4%, $p=0,21$), assim como na dose média de prednisona utilizada. Os pacientes que não atingiram remissão completa no estudo tiveram seguimento com nova terapia. Entre eles, quatro obtiveram remissão histológica com a associação de azatioprina, cloroquina e prednisona. Em relação aos efeitos adversos, houve maior taxa no grupo da cloroquina, porém com tendência a menor prevalência de comorbidades neste grupo. **Conclusão:** Quando bem toleradas, cloroquina e prednisona proporcionaram resposta completa em pacientes com AIH, sem diferença estatística em relação à terapia padrão. (ClinicalTrials.gov NCT 02463331).

Descritores: hepatite autoimune; cloroquina, antimalárico; indução de remissão; fígado; imunossupressão.

ABSTRACT

Falcão LTM. *Randomised clinical trial: evaluation of chloroquine versus azathioprine, in conjunction with prednisone, to treat autoimmune hepatitis* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2018.

Background: The treatment of autoimmune hepatitis (AIH) with prednisone and azathioprine provides disease remission. However, a complete biochemical and histological response is unreachable in most patients. Chloroquine is an antimalarial drug used for treating rheumatological diseases. It was studied as a single drug for the maintenance of AIH remission in an open study, which suggested a lower risk of relapse in the chloroquine group. **Aims:** To evaluate a possible role of chloroquine and prednisone for AIH treatment in a randomized study. **Methods:** 57 AIH adult patients with indication of treatment were enrolled to receive azathioprine or chloroquine, both with varying doses of prednisone, from 2003 to 2012. For those who had maintained biochemical remission for 18 months, liver biopsy was performed to evaluate histological remission. The primary outcome was the achievement of complete response to treatment. A p-value < 0.05 was considered statistically significant. **Results:** There were no significant differences between the groups concerning clinical, serological, histological, and treatment features at baseline. The average age was 37.2 ± 16.84 years, 43.8% with advanced fibrosis (F3/4) at baseline. There was no statistical differences in biochemical (67.7% vs. 53.8%, $p=0.41$) or histological response rate (32.26% vs. 15.38%, $p = 0.217$), as well as in the mean prednisone dose. There was a higher rate of adverse effects in the chloroquine group, but a lower frequency of comorbidities in this group. **Conclusion:** When well tolerated, chloroquine with prednisone provided a complete therapeutic response in AIH patients with no statistical difference when compared to the standard treatment. (ClinicalTrials.gov NCT 02463331).

Descriptors: autoimmune liver disease; chloroquine; antimalarials; remission induction; liver; immunosuppression.

1 INTRODUÇÃO

|

1 INTRODUÇÃO

1.1 Hepatite autoimune: características gerais

Hepatite autoimune (HAI) é doença de etiologia desconhecida, descrita por Jon Waldenstrom em 1950, em que ocorre destruição progressiva do parênquima hepático, e acarreta cirrose com elevada morbimortalidade na ausência de tratamento. Nos Estados Unidos da América e na Europa representa 4-6% dos transplantes hepáticos em adultos ⁽¹⁾. Os critérios para diagnóstico e resposta ao tratamento da HAI foram definidos em 1993 e revisados em 1999 pelo Grupo Internacional de Hepatite Autoimune (Anexo 1) ^(2, 3). Apesar dos critérios requererem a exclusão de outras hepatopatias crônicas com aspectos clínico-laboratoriais semelhantes, muitas características da HAI podem estar presentes em outras doenças hepáticas, como a cirrose biliar primária, colangite esclerosante primária, hepatopatia induzida por drogas, hepatites virais e esteatohepatite alcoólica ou não-alcoólica, tornando muitas vezes o diagnóstico desafiador ⁽⁴⁾.

A HAI acomete principalmente mulheres jovens, mas pode ser diagnosticada em ambos os sexos, em qualquer faixa etária ou grupo étnico ⁽⁵⁾. A prevalência é de 1:5.000 a 1:10.000 indivíduos em países desenvolvidos. No Brasil, há poucos estudos, mas nos principais centros é responsável por 5-19% das doenças hepáticas ^(6, 7). A doença caracteriza-se por hipergamaglobulinemia, reatividade de autoanticorpos circulantes, hepatite de interface ao exame histológico, suscetibilidade genética

relacionada a antígenos leucocitários humanos (HLA) específicos e, ainda, pela resposta favorável ao uso de corticoides e imunossupressores ^(8, 9). A forma de apresentação da HAI é variável e pode ser assintomática em aproximadamente 15-20% dos casos, apenas com elevação de enzimas hepáticas. Sob a forma de hepatite aguda ocorre em 30% dos casos, sendo caracterizada por sintomas inespecíficos como astenia, náusea, anorexia, artralgia, dor abdominal, prurido, seguidos por icterícia, colúria e acolia fecal. A forma insidiosa se manifesta como fadiga progressiva, icterícia flutuante, cefaleia, anorexia, amenorreia e perda ponderal. Na forma crônica, surgem alterações clínico-laboratoriais e histológicas características de hepatopatia avançada, com presença ou não de hipertensão portal. Menos frequentemente, a HAI é diagnosticada no contexto de insuficiência hepática aguda, com surgimento de encefalopatia, ascite, hemorragia digestiva, além de outras complicações ⁽¹⁰⁻¹³⁾. Há formas atípicas de apresentação, com acometimento de ductos biliares e ausência de reatividade de autoanticorpos circulantes ⁽⁷⁻¹⁰⁾.

A HAI classifica-se em subtipos, relacionados aos autoanticorpos identificados. A HAI tipo 1 é a mais comum, com predomínio do anticorpo antimúsculo liso (AML), específico para a actina filamentosa (actina F), e anticorpo antinúcleo (FAN) com padrão homogêneo ou pontilhado à imunofluorescência. A HAI tipo 2 é mais prevalente na faixa etária pediátrica, com maior frequência de falência hepática aguda e detecção de anticorpos antimicrosoma de fígado-rim tipo 1 (anti-LKM1) ou o anticitosol hepático tipo 1 (anti-LC1). O anticorpo antiantígeno solúvel fígado-pâncreas (anti-

SLA/LP) é mais específico, relacionado à maior gravidade da doença e maior chance de recidiva após a suspensão do tratamento. Outros autoanticorpos podem ser encontrados, mas não são específicos para um tipo de HAI, como o anticorpo anticitoplasma de neutrófilos, padrão perinuclear (p-ANCA) atípico ^(10, 14). Os dados americanos e europeus relativos à apresentação clínica e à prevalência de autoanticorpos divergem quando comparados à população brasileira. Estudo comparativo incluindo 115 pacientes brasileiros e 161 norte-americanos portadores de HAI tipo 1, evidenciou maiores níveis séricos de aminotransferases, início mais precoce da doença, menor prevalência do anticorpo antinúcleo e maior do anticorpo antimúsculo liso na população brasileira ⁽¹⁵⁾. Dados de uma coorte do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), composta por 268 portadores de HAI, evidenciou hepatite aguda como forma de apresentação mais prevalente (56%), hepatopatia crônica avançada em 25% e diagnóstico na forma assintomática em 10% dos casos ⁽¹⁶⁾.

O mecanismo patogênico da HAI é multifatorial, com participação de agentes desencadeantes (infecções, drogas, toxinas), predisposição genética e menor tolerância à ativação imunológica e expansão celular efetora (linfócitos T citotóxicos CD4/CD8) ^(13, 17, 18). Pela veia porta, há circulação intra-hepática do sangue proveniente do trato gastrointestinal, contendo inúmeros antígenos alimentares e da flora intestinal comensal ou infecciosa. Tais antígenos são apresentados pelas células apresentadoras de antígeno (APC), desencadeando a resposta imune nos indivíduos predispostos geneticamente ⁽¹⁹⁾. A causa da predisposição ainda é

desconhecida e envolve regulação imunológica por meio da participação do HLA, parte do complexo maior de histocompatibilidade (MHC), que regula os mecanismos imunológicos efetores e supressores. Há variação geográfica na participação dos diferentes alelos do HLA: pacientes norte-americanos e europeus com HAI tipo 1 apresentam os alelos DRB1*0301, DRB3*0101 e DRB1*0401; no Japão, DRB1*0405e no Brasil, DRB1*1301 e HLA DRB1*0301. Na HAI tipo 2, os alelos mais prevalentes são DRB1*07 e DRB1*03⁽²⁰⁻²²⁾. O tipo de HLA influencia na apresentação clínica da HAI pois o DR03 e DR13 associam-se à maior gravidade e o DR04 a início em idade avançada com um curso mais benigno da doença⁽²³⁾.

Em relação aos mecanismos imunológicos da HAI, há disfunção dos linfócitos T-reguladores (Treg), com hiperativação da resposta imune humoral e citotóxica, incluindo células *natural-Killer* (NK), linfócitos T CD4 e CD8, desencadeada por gatilhos, como provavelmente infecções, drogas, xenobióticos. Após a ativação monoclonal linfocitária, há indução da produção de linfocinas e citocinas pró-inflamatórias, ocasionando lesão celular^(13, 19). Estudos recentes enfatizam a participação da resposta imune Th17, caracterizada pela liberação de interleucinas (IL-17, IL-22) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), na autoimunidade em animais e em humanos, estando relacionada à fisiopatogenia de doenças autoimunes, como artrite reumatoide, esclerose múltipla, doença inflamatória intestinal e psoríase⁽²⁴⁾. Existem relatos da associação da resposta Th17 à lesão hepática na colangite biliar primária e na HAI. Nesta, a IL-17 induziria a expressão de IL-6 (responsável pela diferenciação linfocitária) nos hepatócitos^(25, 26). A figura

1 demonstra os mecanismos de lesão hepática pela HAI, desde a apresentação de antígenos à diferenciação linfocitária, com produção de interleucinas, TNF-alfa, plasmócitos e autoanticorpos.

Fonte: Adaptado de Liberal; Mieli-Vergani ⁽¹⁷⁾.

A lesão hepática inicia-se com apresentação de autoantígenos pelas células apresentadoras de antígenos (APCs), com estímulo à diferenciação de células T CD4. As Interleucinas IL-6 e IL-1 β estimulam a diferenciação na resposta Th17, com secreção de citocinas pró-inflamatórias IL-17 e de IL-6, a qual estimula ainda mais a diferenciação na resposta Th17. A exposição à IL-12 estimula a diferenciação na resposta Th1, com secreção de Interferon- γ e indução de diferenciação de monócitos. A exposição à IL-4 estimula a diferenciação na resposta Th2, que cursa com secreção de IL-13, IL-4 e IL-10, estimulando a maturação de células B em plasmócitos e consequente produção de autoanticorpos.

Figura 1 - Mecanismo de lesão hepática na hepatite autoimune

1.2 Tratamento da hepatite autoimune

O tratamento é indicado em indivíduos que, se não tratados, poderiam evoluir com disfunção hepática, como nos casos de apresentação da doença com aminotransferases ≥ 10 vezes o valor normal (VN) ou $\geq$ cinco vezes o

VN e gamaglobulinas elevadas (mortalidade de 60% em seis meses, sobrevida de 10% em 10 anos), ou com necrose em ponte/multiacinar na biópsia hepática (progressão para cirrose em 82% dos casos e 45% de mortalidade em cinco anos) ^(1, 4, 27). Devido ao pior prognóstico nessas situações há indicação absoluta de tratamento, com sobrevida de aproximadamente 80% em 10 anos com uso de corticoides e imunossupressores. Para os indivíduos sintomáticos (fadiga, artralgia, icterícia), com alteração de aminotransferases ou de gamaglobulinas menor do que a supracitada, ou com hepatite de interface discreta na biópsia, a indicação de tratamento é relativa. A história natural nesses casos é incerta, porém a imunossupressão é geralmente recomendada pela melhor evolução da doença nos pacientes tratados. A remissão espontânea sem tratamento ocorre na minoria dos casos, com possibilidade de progressão para cirrose e manifestações de insuficiência hepática ^(13, 28, 29). O grupo de indivíduos assintomáticos, com valores normais de aminotransferases e gamaglobulinas, ou com cirrose inativa na biópsia hepática, geralmente evolui sem deterioração clínica ^(1, 30, 31). Como a relação de risco versus benefício do tratamento é incerto, a sua indicação é individualizada durante o acompanhamento clínico.

O objetivo do tratamento é a melhora clínico-laboratorial e remissão histológica da doença, no intuito de evitar a deterioração da função hepática, o transplante hepático e o óbito ^(31, 32). Há a fase de indução da remissão, com início da terapia até a melhora clínica e laboratorial e posteriormente, a manutenção da remissão, com redução paulatina até a menor dose

terapêutica do corticosteroide e do imunossupressor ^(11, 33). De acordo com o *International Autoimmune Hepatitis Group* (Grupo Internacional de HAI), a ausência de resposta caracteriza-se por exames hepáticos 50% acima dos valores iniciais após o primeiro mês de tratamento ou melhora dos exames em 50% nos dois primeiros meses, porém sem normalização após o sexto mês da terapia ⁽³⁾. A remissão bioquímica da HAI pode ser alcançada em até 75-90% com o tratamento padrão em 24 meses. Porém, a remissão histológica, em que há inatividade inflamatória à biópsia hepática, é atingida apenas em 25-70% dos pacientes após terapia prolongada, e está associada a sobrevida de até 80% em 10 anos ^(4, 8, 32, 33, 34). Na casuística do Ambulatório de Doenças Autoimunes e Metabólicas do HC-FMUSP, a taxa de resposta completa foi 35%, com média de acompanhamento clínico de cinco anos ⁽¹⁶⁾.

1.2.1 Tratamento padrão

Há diversos estudos clínicos com corticoterapia (prednisona/prednisolona), demonstrando melhora clínico-laboratorial, redução da atividade inflamatória no exame anatomopatológico e aumento da sobrevida, destacando-se como base do tratamento da HAI ^(9, 27, 29, 34). Apesar da possibilidade do uso do corticosteroide em monoterapia, geralmente é associado à azatioprina, no intuito de minimizar os efeitos adversos associados à corticoterapia em doses elevadas. Tal associação proporciona melhora bioquímica em 80% dos pacientes, com duração da terapia variável e recidiva após suspensão em até 70 dos casos ^(1, 4, 13, 35).

A prednisona é a droga de escolha para indução da remissão, podendo ser iniciada em doses altas, de 30 a 60 mg/dia e ser semanalmente reduzida na fase de manutenção a 10 mg/dia, de acordo com a Associação Americana para o Estudos de Doenças Hepáticas (AASLD) ⁽¹⁾. O desmame da prednisona é realizado de forma mais paulatina, mensal, nos centros brasileiros ⁽¹²⁾. Os efeitos adversos podem ser fator limitante ao tratamento e incluem osteoporose, hiperglicemia, hipertensão arterial, obesidade, acne, estrias cutâneas, labilidade emocional, catarata e glaucoma ^(1, 30, 33).

A azatioprina é utilizada em doses variáveis, a partir de 50 mg/dia até 2 mg/kg/dia. O uso adjuvante à prednisona permite doses menores do corticosteroide e redução dos efeitos adversos associados ^(4, 15, 29, 30). A hepatotoxicidade pela azatioprina é rara e decorre de níveis elevados do metabólito 6-metilmercaptipurina, acima de 5700 picomol/8 x 10⁸ células vermelhas no sangue. Geralmente, é dose dependente e mais frequente em pacientes com hepatite crônica avançada ⁽³⁶⁾. Citopenias podem ocorrer com uso da droga, sendo recomendado o acompanhamento rotineiro com hemograma. A azatioprina deve ser evitada em portadores da deficiência da enzima tiopurinametiltransferase, em casos de citopenias e de malignidade. O uso na gestação é controverso por relatos de associação da droga com atrofia do timo e linfopenia em recém-nascidos, sendo considerada classe D pelo FDA. A suspensão da azatioprina durante o período gestacional é recomendada por alguns consensos de HAI, como o americano o brasileiro, em oposição às diretrizes do grupo europeu, que não a contraindica durante a gestação ^(1, 4, 12).

Após a obtenção de resposta completa (clínico-laboratorial e histológica), o manejo pode ser de três formas: suspensão da terapia imunossupressora, manutenção do esquema terapêutico que levou à resposta completa ou modificação do regime imunossupressor, com suspensão do corticoide e manutenção de azatioprina em monoterapia, cuja dose pode ser ajustada até 2 mg/kg/dia ^(4, 37). Nesse contexto, estudo piloto com cloroquina apontou essa droga como opção no intuito de minimizar a taxa de recidivada HAI ⁽³⁸⁾.

1.2.2 Tratamentos alternativos

Apesar do resultado favorável da terapia padrão da HAI, ocorre refratariedade ao uso combinado de corticosteroide e azatioprina em torno de 10% dos casos, resposta incompleta (ausência de normalização dos níveis de enzimas hepáticas e de gamaglobulinas) em torno de 15%, e intolerância ou efeitos adversos em aproximadamente 15% dos pacientes. Nessas situações, o uso de drogas alternativas torna-se necessário para o controle da doença ^(39, 40, 41). O uso de budesonida, 6-mercaptopurina, micofenolato, ciclosporina, tacrolimus, ácido ursodesoxicólico e ciclofosfamida tem sido relatado com respostas variáveis, descritas nos tópicos seguintes. Entretanto, não há estudos randomizados para evidenciar a real resposta às drogas supracitadas, exceto com o ácido ursodesoxicólico e a budesonida ^(1, 35, 39).

1.2.2.1 Budesonida

A budesonida é um corticosteroide com 90% do metabolismo hepático na primeira passagem, o que resulta em menos efeitos sistêmicos. Há algumas séries de casos, com número pequeno de pacientes intolerantes à prednisona, que relatam resposta bioquímica em menos de 50% dos casos ⁽⁴²⁻⁴⁴⁾. Em 2010, um estudo multicêntrico randomizado, envolvendo 203 portadores de HAI, comparou a taxa de resposta bioquímica em seis meses com uso de prednisolona ou budesonida, ambos associados à azatioprina. Nesse ensaio terapêutico, a remissão foi de 60% no grupo da budesonida x 38,8% no da prednisolona ⁽⁴⁵⁾. Contudo, a prednisolona foi reduzida semanalmente, de acordo com as diretrizes da AASLD e a dose da budesonida manteve-se fixa em 6-9 mg/dia, o que pode ter contribuído para resultado superior. Ademais, a taxa de remissão com prednisona foi bem inferior aos outros estudos com a droga e não foi avaliada a taxa de remissão histológica. Nos pacientes cirróticos, principalmente com *shunt* portossistêmico, a budesonida deve ser desencorajada pela perda da vantagem de sua metabolização hepática na primeira passagem e consequentes efeitos colaterais por atingir a circulação sistêmica. Em contrapartida, o Consenso da Associação Europeia para estudo do fígado (EASL) considera o uso combinado de budesonida (9 mg/d) e azatioprina em situações específicas: pacientes virgens de tratamento, não cirróticos, com doença em estágio inicial e em que os efeitos sistêmicos da corticoterapia são intoleráveis, como nos casos de diabetes mal controlada, osteoporose e psicose ⁽⁴⁾.

1.2.2.2 Micofenolato

O micofenolato sódico ou de mofetila é inibidor da enzima inositol monofosfato desidrogenase, que atua na síntese de purinas e na proliferação de linfócitos B e T. Obtiveram-se respostas variáveis no tratamento da HAI com doses entre 0,5 g a 3 g/dia ^(46, 47). Em 2005, o uso empírico demicofenolato em oito pacientes sem resposta ao tratamento padrão da HAI não demonstrou melhora bioquímica ⁽⁴⁸⁾. Em 2007, outro estudo avaliou a droga em 15 pacientes refratários ou intolerantes à azatioprina por período médio de 41 meses, com melhora bioquímica e histológica principalmente nos intolerantes à azatioprina ⁽⁴⁹⁾. Estudos posteriores demonstraram melhora enzimática em 40 a 60% dos pacientes, com resposta mais favorável nos intolerantes prévios à azatioprina ⁽⁵⁰⁻⁵²⁾. Em 2016, Zachou *et al.* publicaram estudo de “vida real”, com 109 pacientes inicialmente tratados com 1,5-2 g/dia de micofenolato e doses variáveis de prednisolona ao longo de 14 anos. A remissão bioquímica sustentada por dois anos foi atingida em 75% dos casos, sendo a resposta histológica avaliada em apenas 35 pacientes, porém não houve comparação com o tratamento padrão ⁽⁵³⁾. Leucopenia e diarreia são os principais efeitos adversos do micofenolato, além de náuseas, vômitos e rash cutâneo. Por ser teratogênico em estudos com animais não é recomendado na gestação ^(50, 52). Devido as evidências na literatura, a combinação de micofenolato e corticosteroide tem sido utilizada para pacientes intolerantes à azatioprina.

1.2.2.3 Inibidores de calcineurina: ciclosporina e tacrolimus

A ciclosporina e o tacrolimus (FK506) são classificados como inibidores da transcrição do primeiro sinal para ativação do linfócito T. A ciclosporina é produto undecapeptídeo do fungo *Tolypocladium inflatum*, não é uma droga citotóxica, exercendo seu efeito em população restrita de células linfoides. A ação imunossupressora da droga depende da formação de um complexo com seu receptor citoplasmático, a ciclofilina, a qual se liga e inibe a atividade da fosfatase da calcineurina. Tal ação inibe a expressão de genes de proteínas nucleares envolvidas na ativação celular e formação do linfócito T citotóxico. Uma dessas proteínas, o fator nuclear de células T ativado, desloca-se para o núcleo, onde se liga à região promotora de genes interleucina 2 (IL2), interleucina 4 (IL4) e interferon gama (IFN- γ), causando a transcrição dos mesmos e a secreção de citocinas ^(17, 21). A ciclosporina circula associada às lipoproteínas, sendo metabolizada via citocromo P450 em pelo menos 25 metabólitos ^(54, 55).

O tacrolimus é produto hidrofóbico do *Streptomyces tsukubaensis* e tem ações similares às da ciclosporina com potencial imunossupressor 50 a 100 vezes maior. A droga inibe a atividade da calcineurina após ligar-se a uma diferente imunofilina, a *FK-binding protein isoenzyme 120* (FKBP-12), interferindo na transdução do sinal de imunoativação das células T. As imunofilinas ligadoras de FK506 associam-se a receptores de glicocorticoides, o que promove a sua translocação para o núcleo e inibição da transcrição de diversas citocinas inflamatórias, mimetizando o efeito dos corticoides ^(56, 57). A absorção é variável, não é influenciada pela bile e sofre

metabolização hepática, resultando em mais de 15 metabólitos. Pelo efeito imunossupressor, o uso dessas drogas como terapia alternativa da HAI tem sido avaliado em casos refratários ao tratamento clássico ⁽⁵⁸⁾.

A ciclosporina tem sido estudada na indução da remissão da HAI, com resultados positivos principalmente na população pediátrica ^(59, 60). Cuarterolo *et al.* (2006) avaliaram a indução da remissão da HAI em 84 pacientes pediátricos com ciclosporina e prednisona, obtendo-a em 94% dos casos em seis meses ⁽⁶¹⁾. Em contrapartida, como a droga não foi adequadamente comparada com o esquema convencional não foi incorporada no tratamento de primeira linha. Os principais efeitos adversos da droga são nefrotoxicidade, dislipidemia, hipertensão arterial sistêmica, hipercalemia, hirsutismo, hipertrofia gengival e indução a malignidades ^(59, 62, 63).

O tacrolimus foi avaliado para tratamento da HAI em séries de casos envolvendo indivíduos refratários à terapia padrão da HAI, promovendo melhora bioquímica com disfunção renal leve em apenas alguns casos ^(58, 64, 65). Estudo aberto com 21 pacientes demonstrou resposta bioquímica com tacrolimus em monoterapia na dose média de 3 mg 12/12h e nível sérico médio de 0,5 ng/ml ⁽⁶⁶⁾. Os principais efeitos adversos relacionados à droga são diabetes, neurotoxicidade, nefrotoxicidade, diarreia, prurido e alopecia ^(65, 67). Consensos e *guidelines* permitem o uso dos inibidores de calcineurina como terapia de resgate nos casos de falha à terapêutica tradicional ^(1, 4, 63, 68).

1.2.2.4 Inibidores do alvo da rapamicina de mamíferos (mTOR)

A ativação da via de sinalização mTOR estimula a proliferação e sobrevivência dos linfócitos, tendo os inibidores dessa via (sirolimus e everolimus) sido utilizados na prevenção de rejeição no transplante de órgãos sólidos e, mais recentemente, no tratamento de neoplasias ⁽⁶⁹⁾.

Estudo americano avaliou o uso de sirolimus em cinco pacientes com HAI refratária entre 2007 e 2014 e demonstrou queda dos níveis séricos das enzimas hepáticas maior do que 50% em quatro pacientes e remissão completa em dois deles ⁽⁷⁰⁾. Recentemente, o everolimus foi avaliado em sete pacientes com HAI refratária, com redução dos níveis das aminotransferases e manutenção da melhora bioquímica após cinco meses de uso. Após um ano de tratamento, apenas três pacientes mantiveram remissão bioquímica e dois obtiveram melhora histológica. Os efeitos adversos foram mialgia e infecções bacterianas de fácil controle, que não necessitaram suspensão da droga ⁽⁷¹⁾. A escassez de estudos não permite o uso rotineiro de sirolimus e everolimus no tratamento da HAI.

1.2.2.5 Ácido ursodesoxicólico

O ácido ursodesoxicólico (AUDC) é ácido biliar fisiologicamente presente na bile em quantidade limitada. Apresenta efeito colerético, imunomodulador e antiapoptótico. Em 1995, estudo japonês relatou resposta clínico-laboratorial com uso de AUDC (600 mg/dia) em portadores de HAI não agressiva ⁽⁷²⁾. Estudo posterior randomizado, placebo controlado, avaliou o AUDC na dose de 13-15 mg/Kg/dia associado à prednisona em 37

portadores de HAI tipo 1, refratários ou com resposta incompleta ao tratamento padrão. Após seis meses, houve melhora bioquímica do grupo do AUDC, porém sem repercussão histológica ⁽⁷³⁾. O Consenso Brasileiro de HAI reporta benefício do uso da droga quando associada ao tratamento convencional nos pacientes com elevação dos níveis de aminotransferases e de enzimas canaliculares ⁽¹²⁾.

1.2.2.6 Outras terapias alternativas

O rituximabe, anticorpo monoclonal anti-CD20, foi avaliado para tratamento da HAI em poucos casos, sem evidência para uso rotineiro ^(74, 75). Um dos estudos incluiu seis pacientes intolerantes ou refratários à terapia padrão submetidos ao uso de rituximabe na dose de 1 g no primeiro dia e 14 dias após, com manutenção da azatioprina e redução gradual de prednisona por 3 anos. Análise posterior evidenciou melhora bioquímica de todos os participantes, sem efeitos adversos significantes ⁽⁷⁶⁾.

O anticorpo monoclonal anti-TNF α infliximabe promoveu melhora bioquímica em 11 portadores de HAI não respondedores à azatioprina e corticosteroide. A droga foi aplicada por via intravenosa na dose de 5 mg/kg/dose, nos dias 1, 14 e 42 da terapia, e repetida posteriormente a cada quatro a seis semanas. A remissão histológica foi alcançada em 8 dos 11 participantes, o que representa resultado promissor para os casos de difícil resposta à terapia padrão. Entretanto, a droga proporciona maior risco de aquisição de doenças infecciosas, particularmente em cirróticos, além de

relato de hepatotoxicidade grave com a droga, com quadro semelhante ao de HAI induzida por drogas ^(77, 78).

O metotrexato antagoniza o metabolismo do folato e tem propriedades antiinflamatórias e imunomoduladoras. Há relato de melhora bioquímica em portadores de HAI com uso semanal da droga. Supressão medular e possibilidade de hepatotoxicidade limitam o uso em longo prazo ⁽⁷⁹⁾.

A ciclofosfomida é um agente citotóxico, com experiência em HAI limitada a séries de casos com poucos pacientes, sugerindo boa resposta. Kanzler *et al.* (1997) trataram três pacientes com ciclofosfamida na dose de indução de 1-1,5 mg/kg associada à prednisona em doses decrescentes, com melhora enzimática ⁽⁸⁰⁾. Devido à escassez de estudos e ao risco de hepatotoxicidade, o uso na prática clínica não é recomendado.

Pesquisadores aventam a possibilidade da terapia genética no futuro, baseando-se estudos realizados em modelos animais. A geração de antígenos específicos para as células Tregs, para regulação da resposta inflamatória na HAI pode ser útil já que na sua fisiopatogenia parece haver inibição de células reguladoras da resposta imune ⁽⁸¹⁾.

O abatacepte (CTLA4-Ig) é uma proteína de fusão produzida por engenharia genética constituída pelo domínio extracelular do receptor CTLA4 e um fragmento Fc da imunoglobulina humana IgG1. A ativação dos linfócitos T necessita de sinais moleculares, como a apresentação do antígeno pelo MHC ao receptor da célula T e a co-estimulação, realizada pela interação das moléculas CD 80/86, presentes nas APCs, com o CD 28 dos linfócitos T. O abatacepte é um receptor específico para o CD 80/86 com

afinidade cerca de 500-2500 vezes maior do que o CD 28, inibindo a função da célula T. Terapias experimentais com abatacepte visam impedir a ativação dos linfócitos T CD4 induzida pelas APCs, estimular a apoptose dos linfócitos hepatocitotóxicos (CD3), promover a expansão de Tregs e reduzir a ativação de células estreladas produtoras de colágeno. Todavia, é terapia cara, experimental e de resultados incertos ^(5, 35, 82).

Apesar de algumas drogas supracitadas mostrarem-se promissoras nos casos intolerantes ou refratários à terapia padrão, nenhuma delas tem sido recomendada no tratamento de primeira linha, seja por falta de estudos controlados evidenciando a não inferioridade à terapia padrão, seja pelos efeitos adversos delas provenientes. Dessa forma, a busca de drogas alternativas comprovadamente eficazes no tratamento da HAI e bem toleradas deve ser encorajada pela comunidade científica. Nesse contexto, surgiu a hipótese do uso de drogas imunomoduladoras utilizadas no tratamento de outras doenças autoimunes para terapia da HAI.

1.3 Uso dos antimaláricos nas doenças reumatológicas autoimunes

Os antimaláricos difosfato de cloroquina, mais conhecido como cloroquina, e hidroxicloroquina foram desenvolvidos inicialmente para o tratamento da malária e posteriormente mostraram-se benéficos no manejo de doenças reumatológicas e dermatológicas, principalmente de origem autoimune. A cloroquina é droga do grupo das 4-aminoquinolonas, um

derivado sintético da quinina que é um constituinte da casca da árvore Cinchona. Foi desenvolvida durante a Segunda Guerra Mundial nos Estados Unidos e na Alemanha, com finalidade de se obter um antimalárico mais eficaz e menos tóxico. Consiste de um anel 7-cloroquinolina substituído por uma cadeia lateral pentadiamina ^(83, 84).

Os antimaláricos têm sido utilizados há cerca de 60 anos em doenças reumatológicas autoimunes, principalmente no lúpus eritematoso sistêmico e na artrite reumatoide. No lúpus, retardam o surgimento e previnem exacerbações de sintomas cutâneo articulares, além de estarem relacionados a aumento de sobrevida, aumento da mineralização óssea, proteção contra eventos trombóticos com moderado a alto grau de evidência ^(85, 86). O estudo “Euro-Lúpus” analisou 1.000 pacientes em tratamento para o lúpus eritematoso sistêmico desde 1950, com evidência de aumento substancial de sobrevida com o uso de antimaláricos ⁽⁸⁷⁾, e publicações recentes sugerem o uso rotineiro de tais drogas pelo aumento de sobrevida comprovado para essa população de pacientes ^(88, 89).

Na artrite reumatoide, há evidência de melhora clínico-laboratorial com manutenção do uso de cloroquina ou hidroxicloroquina, principalmente no acometimento leve em associação a metotrexato nos casos moderados ⁽⁹⁰⁻⁹²⁾. Em estudo com indivíduos submetidos ao uso de metotrexato, o uso de hidroxicloroquina aparentou minimizar o dano hepático produzido pelo mesmo, sendo efeito benéfico adicional do antimalárico nos portadores de artrite reumatoide ⁽⁹⁰⁾. Os benefícios promovidos aos portadores de lúpus e artrite reumatoide tornaram os antimaláricos pilares do tratamento dessas

doenças. Em oncologia, o uso como quimioterapia adjuvante tem sido avaliado em estudos *in vitro*, com bons resultados para linfoma, melanoma, adenocarcinoma de pulmão e de mama ^(93, 94).

O mecanismo de ação dos antimaláricos envolve diversas etapas da resposta imune. É droga lisossomotrópica e, por ser base fraca, interfere na função fagocítica lisossomal, que necessita de pH ácido intracelular para ocorrer. Nos linfócitos T, os lisossomos exercem dupla função, de degradação do material endocitado e participação na apoptose das APCs. Por meio da ação lisossomotrópica, o antimalárico reduz a apresentação antigênica pelas APCs, gatilho para início e perpetuação da resposta imune ⁽⁹³⁻⁹⁵⁾. Concomitantemente, inibem a produção de citocinas (IL-1, IL-2, IL-6, IL-17, IL-22, interferon alfa, TNF- α) responsáveis pela inflamação nas diversas doenças imunomediadas, como a HAI ⁽⁹⁶⁻¹⁰⁰⁾. Ademais, os antimaláricos antagonizam os efeitos de sensibilização dos ácidos nucleicos sobre os receptores *toll-like* (TLRs), que são receptores transmembrana responsáveis pelo mecanismo de defesa precoce à presença de antígenos patogênicos. Os TLRs sensíveis a ácido nucleico (TLR3, TLR7, TLR8 e TLR9) localizam-se em compartimentos intracelulares para minimizar exposição acidental de material nucleico do próprio indivíduo. Contudo, o clareamento ineficaz de material celular apoptótico expõe tais ácidos nucleicos aos TLRs, o que resulta em resposta imunomediada, com produção de interferon- α e de citocinas pró-inflamatórias. Nas doenças autoimunes, a presença de anticorpos contra ácidos nucleicos é marcante, e pode ser minimizada com dessensibilização dos TLRs aos mesmos,

proporcionada pelos antimaláricos ^(94, 97, 100, 101). Recentemente, foi relatada a ação de hidroxicloroquina como inibidora da resposta Th17 e consequentemente, da liberação de IL-17 em portadores de lúpus eritematoso sistêmico, sugerindo novo mecanismo de ação dos antimaláricos. A IL-17 amplifica a resposta imune, induzindo expressão de IL-6, com estímulo à produção de linfócitos B e menor diferenciação de Tregs, relação já em desequilíbrio nos portadores de HAI ^(25, 26, 99). Como estudos em roedores demonstraram aumento de IL-17 e da resposta Th17 em doenças hepáticas autoimunes, como HAI e cirrose biliar primária, o mecanismo de ação de antimaláricos relacionado à resposta imune Th17, poderia potencialmente favorecer o uso dessas drogas em portadores de HAI ⁽²⁶⁾.

Fonte: Adaptado de Rahim; Strobl ⁽⁹³⁾.

Os TLR são liberados do complexo de Golgi de forma inativa (1), são clivados e ativados por proteases ácido-dependentes (2), interagindo posteriormente com ácidos nucleicos (3). A ação dos antimaláricos envolve os passos (2) e (3). Após interação com os ligantes específicos, os TLR estimulam a síntese de interferon (4,5). RE, retículo endoplasmático, IFN, interferon.

Figura 2 - Ação dos antimaláricos na via de resposta imune mediada pelos receptores Toll like (TLR)

Além desses mecanismos de ação supracitados, a inibição da autofagia tem sido relacionada ao uso de antimaláricos. A autofagia caracteriza-se por processo de degradação celular lisossômica no intuito de manter o balanço energético e destruir patógenos intracelulares. Hipótese recente sugere indução de autoimunidade por autofagia exacerbada, pela maior sobrevivência e redução da apoptose de linfócitos auto-reativos. Desordens como lúpus eritematoso sistêmico, doença inflamatória intestinal, psoríase e artrite reumatoide têm sido estudadas nesse contexto. Na literatura, há relatos da participação do processo de autofagia na progressão da lesão hepática causada por infecção viral, álcool, doença hepática não-alcoólica e carcinoma hepatocelular. A inibição da autofagia pelos antimaláricos foi relatada como mecanismo de ação anti-inflamatória e antineoplásica⁽¹⁰⁰⁻¹⁰³⁾.

Os efeitos adversos mais comuns dos antimaláricos são dermatológicos, acometendo cerca de 10% dos usuários, destacando-se a hiperpigmentação cutânea, reações de hipersensibilidade e prurido. Há um relato de caso de vitiligo e quatro casos de síndrome de Steven-Johnson com uso de hidroxicloroquina⁽¹⁰⁴⁾. Geralmente, há redução da lesão cutânea com a suspensão da droga, exceto nos raros casos graves, em que pode haver necessidade de internação hospitalar. O depósito da droga na mácula da retina pode ocorrer em 1% após 5 anos, mas até 20% após 20 anos de uso de antimaláricos, e é mais comum com cloroquina⁽¹⁰¹⁻¹⁰³⁾. O mecanismo para indução de retinopatia ainda é desconhecido, requer suspensão da droga e pode ser irreversível, sendo recomendada avaliação oftalmológica

anual após cinco anos de uso ⁽¹⁰⁴⁾. Sintomas gastrointestinais incluem náusea, êmese e diarreia, sendo anorexia e distensão abdominal raras. Tais efeitos geralmente ocorrem nas primeiras semanas de tratamento e são minimizados com redução ou fracionamento da dose ⁽¹⁰⁵⁾. Neuromiopia induzida por antimaláricos é evento raro (cerca de 12 casos na literatura), caracteriza-se por paresia progressiva e insidiosa de membros inferiores e é reversível após suspensão da droga ⁽¹⁰⁶⁾. Apesar dos efeitos adversos e reações tóxicas acima descritos, considera-se a cloroquina uma droga geralmente bem tolerada, desde que seja utilizada na posologia adequada e com acompanhamento oftalmológico regular. São consideradas contraindicações ao uso de da droga: hipersensibilidade ou alterações oftalmológicas atribuíveis aos antimaláricos ⁽¹⁰⁷⁾. Os antimaláricos não são contraindicados na gestação, não há evidência de teratogenicidade ou consequências para o recém-nascido, e são classificados como categoria C pelo FDA ^(108, 109).

1.4 Uso de cloroquina e hidroxicloroquina em doenças hepáticas

Desde a década de 1950, o uso de cloroquina tem sido avaliado em portadores de hepatite crônica ⁽¹¹⁰⁾. Kouroumalis *et al.* (1986) estudaram a droga em sete pacientes com hepatite B e obtiveram normalização das aminotransferases e recidiva da doença após suspensão da droga. Nesse estudo, a biópsia hepática evidenciou cirrose inativa após um ano de

tratamento em quatro pacientes, que não apresentaram efeitos adversos graves ⁽¹¹¹⁾. Helbling *et al.* (1994) observaram em dois pacientes com hepatite B crônica exacerbação da doença após suspensão da cloroquina, de forma similar ao que ocorre com a suspensão de corticosteroides em portadores de hepatite B com replicação viral ⁽¹¹²⁾. Recentemente, a descoberta da modulação da autofagia promovida pelos antimaláricos tem fomentado o uso da droga em portadores de hepatites crônicas B e C e de hepatocarcinoma ^(97, 108, 109, 113, 114). Peymani *et al.* (2016) realizaram estudo piloto randomizado, placebo controlado, com 10 portadores de hepatite C não respondedores à terapia dupla (interferon peguilado e ribavirina). Nesse estudo, um grupo recebeu cloroquina e o outro placebo por oito semanas, com redução significativa da carga viral no primeiro grupo ($p = 0,04$), e com posterior elevação após a suspensão da droga. Todavia, mais estudos devem ser realizados para comprovar a eficácia da droga no tratamento da hepatite C ⁽¹¹⁴⁾.

Na HAI, a cloroquina foi avaliada na manutenção da remissão da doença após a suspensão do tratamento padrão por Mucenic *et al.* (2005) na dose de 250 mg/dia por no mínimo um ano ou até haver recidiva da doença ⁽³⁸⁾. Nesse estudo, 14 pacientes em uso de cloroquina foram comparados a 18 controles históricos e houve uma chance de 6,49 (1,38–30,3) maior da recidiva da HAI nos casos de suspensão da terapia padrão sem uso posterior do antimalárico (72,2% vs. 23,5%; $p = 0,031$). Em dois pacientes desse estudo, após a suspensão da cloroquina houve recidiva da atividade inflamatória e posterior normalização das aminotransferases ao reintroduzi-la

⁽³⁸⁾. Em tese de doutorado do mesmo autor, foi realizado estudo piloto para tratamento da HAI com uso de azatioprina, prednisona e cloroquina, com participação de 10 pacientes cirróticos que apresentaram resposta incompleta à terapia padrão (manutenção de aminotransferases ≥ 2 vezes o VN). A introdução do antimalárico reduziu os valores das enzimas hepáticas, porém a redução teve mínima relevância clínica e foi significativa apenas para os valores de aspartato aminotransferase (AST). Sugeriu-se que estudo controlado, com número maior de participantes com atividade inflamatória confirmada seria necessário para avaliação da possibilidade do uso do antimalárico no tratamento da HAI ⁽¹⁰⁸⁾. O grupo de HAI do HC-FMUSP desenvolveu um estudo randomizado, duplo cego com uso de cloroquina para a manutenção de remissão da HAI após a suspensão da imunossupressão. Neste estudo, pacientes foram randomizados para receber placebo ou cloroquina após suspensão da imunossupressão e os que a receberam recidivaram menos, com significância estatística.

Dessa forma, analisando-se os mecanismos de ação da cloroquina nas doenças autoimunes e a evidência positiva dos estudos com a droga em hepatopatias crônicas, incluindo HAI, cogitou-se o seu uso como adjuvante aos corticosteroides na HAI, em estudo comparativo com o tratamento padrão.

2 OBJETIVOS

|

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo primário

Avaliar a taxa de remissão completa da HAI, incluindo as taxas de remissão bioquímica e histológica, com uso de cloroquina e prednisona em comparação à terapia padrão (azatioprina e prednisona), com randomização dos grupos.

2.2 Objetivos secundários

Os objetivos específicos do estudo foram:

- Estimar a dose média de prednisona utilizada para alcançar a remissão bioquímica e histológica da HAI em ambos os grupos;
- Avaliar, durante o seguimento dos pacientes sem resposta completa ao tratamento, o comportamento da doença após nova imunossupressão;
- Avaliar os efeitos adversos dos tratamentos propostos.

3 MÉTODOS

|

3 MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo

Foi realizado um estudo randomizado, aberto, unicêntrico, de intervenção, entre 2003 e 2015. Os autores elaboraram o protocolo, adquiriram e mantiveram os dados para posterior análise estatística.

3.2 Seleção da casuística

3.2.1 Critérios de inclusão

Foram selecionados para o estudo pacientes acompanhados no Ambulatório de HAI do HC-FMUSP entre 2003 e 2012 e incluídos de acordo com os seguintes critérios:

- Portadores de HAI acima de 18 anos, com indicação de tratamento de acordo com os critérios diagnósticos definidos pelo Grupo Internacional de HAI ⁽³⁾, abrangendo aqueles com indicação absoluta de tratamento de acordo com as recomendações dos *guidelines* brasileiro, europeu e americano de HAI: alteração significativa de aminotransferases (valor sérico > 10 vezes o VN ou > 5 vezes com elevação de gamaglobulinas > 2 vezes o VN) ou atividade inflamatória na biópsia

hepática (hepatite crônica ativa, com plasmócitos/rosetas ou necrose confluyente) ^(1,4,12).

- Portadores de HAI previamente tratados com remissão histológica, que após suspensão da terapia imunossupressora, apresentaram diagnóstico de recidiva da doença, caracterizada por elevação de aminotransferases > 2 vezes o VN, tendo indicação de novo tratamento de acordo com as recomendações dos *guidelines* brasileiro, europeu e americano de HAI ^(1, 4, 12).

3.2.2 Critérios de exclusão

- Cirrose hepática descompensada (ascite, hemorragia digestiva por hipertensão portal, encefalopatia hepática, peritonite bacteriana espontânea)
- Neoplasia diagnosticada ou em tratamento
- Gravidez

3.3 Randomização

Os pacientes elegíveis foram randomizados para receber azatioprina ou cloroquina, ambos em associação com prednisona. A randomização foi aleatória: 70 tratamentos foram colocados em um envelope e após sorteio, numerados sequencialmente. A alocação foi realizada ao longo dos nove anos pela ordem do sorteio. Entretanto, durante o tempo proposto para o

estudo, apenas 57 pacientes apresentaram critérios de inclusão e aceitaram participar do protocolo. Dessa forma, optou-se por amostra de conveniência e os pacientes incluídos foram designados para as intervenções propostas.

3.4 Intervenções

Para o grupo de tratamento padrão foi administrada azatioprina, iniciada com dose diária de 50 mg e posteriormente ajustada de acordo com exames laboratoriais até 2 mg/kg/dia, em associação com prednisona na dose inicial de 30 mg/dia e gradualmente reduzida a 5-15 mg /dia. O ajuste das doses das medicações foi realizado mensalmente até a obtenção da dose de manutenção de tratamento. O grupo de estudo recebeu cloroquina 250 mg/dia e prednisona com dose inicial de 30 mg/dia e mensalmente reduzida para 5-15 mg/dia. As medicações foram dispensadas pela farmácia do HC-FMUSP.

Todos os pacientes participaram de consultas mensais durante os primeiros seis meses de estudo, quando eram coletados e avaliados os resultados dos exames laboratoriais. Após o sexto mês, as consultas médicas e coleta de exames eram realizadas a cada dois meses. Os efeitos adversos foram registrados e caracterizados como relacionados à droga ou não. Os usuários de cloroquina foram submetidos à avaliação oftalmológica (exame de fundo de olho) no início e anualmente ao longo do estudo, com

suspensão da droga se houvesse detecção de sinais sugestivos de retinopatia.

3.5 Critérios de interrupção do tratamento

- Gestação durante o estudo
- Perda de seguimento
- Desejo do paciente
- Diagnóstico de retinopatia ou outro efeito colateral significativo (lesão dermatológica importante)
- Ausência de remissão bioquímica após seis meses de tratamento
- Deterioração da função hepática

3.6 Desfechos e avaliação de resposta ao tratamento

3.6.1 Desfecho primário

O desfecho primário foi a obtenção de remissão completa da HAI, caracterizada pelo alcance de remissão bioquímica e histológica. A remissão bioquímica foi definida como a normalização dos níveis séricos das enzimas hepáticas AST e alanina aminotransferase (ALT). Após 18 meses de manutenção da remissão bioquímica, foi realizada biópsia hepática para avaliação da atividade inflamatória no tecido hepático. A remissão

histológica foi caracterizada por inflamação periportal mínima ou ausente, classificada de acordo com os critérios da Sociedade Brasileira de Patologia como 1 ou 0, respectivamente (Anexo 2).

3.6.2 Desfechos secundários

Os resultados secundários incluíram falha do tratamento, resposta parcial, efeitos adversos que culminaram com suspensão do fármaco e perda de seguimento. A falência do tratamento foi definida como a ausência de resposta bioquímica (uma diminuição de menos de 50% nos níveis séricos de aminotransferases) até o sexto mês de tratamento, apesar de adesão terapêutica. A resposta parcial foi definida como redução maior do que 50% dos níveis de ALT/AST sem normalização ao final do sexto mês do estudo. No grupo da cloroquina, os doentes que descontinuaram o estudo foram tratados com o regime convencional (azatioprina e prednisona) ou apenas tiveram inclusão de azatioprina sem retirada de cloroquina. A resposta à nova terapia instituída foi avaliada posteriormente.

Embora azatioprina e cloroquina não tenham efeitos teratogênicos estabelecidos, os fármacos foram suspensos em caso de gravidez e manteve-se prednisona em monoterapia.

3.7 Aspectos éticos

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HC-FMUSP sob o número 0571/04 (Anexo 3) e registrado no *ClinicalTrials.Gov* sob ID: NCT 02463331. Os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido após explanação do estudo e dos possíveis efeitos adversos de cada medicação.

3.8 Aspectos revisados dos prontuários médicos

Os prontuários dos participantes do estudo foram acessados para obtenção de dados clínico-laboratoriais, desde o início do acompanhamento ambulatorial até dezembro de 2015, para avaliação da evolução após saída do protocolo.

3.8.1 Dados clínicos

Os dados clínicos observados em prontuário foram: sexo, data de nascimento, presença de sintomas e alterações ao exame físico. Devido ao uso de prednisona, avaliou-se o surgimento das seguintes comorbidades: hipertensão arterial (definida por duas ou mais medidas de pressão arterial $> 140 \times 90$ mmHg), diabetes (definida por duas medidas de glicemia de jejum > 126 mg/dL), obesidade (definida por índice de massa corpórea > 30 kg/m²) e dislipidemia (envolvendo hipercolesterolemia isolada ou associada a

hipertrigliceridemia). Os efeitos adversos foram classificados de acordo com a gravidade pela *Common Terminology Criteria for Adverse Events* (CTCAE). (Anexo 5)

3.8.2 Exames complementares

Os exames complementares foram coletados antes do início do tratamento e posteriormente nos dias das consultas médicas. Os exames solicitados durante o estudo foram: hemograma, dosagem sérica de ALT, AST, fosfatase alcalina (FA), gamaglutamil transpeptidase (GGT), albumina, índice internacional normatizado (INR), imunoglobulina G (IgG), gamaglobulinas, bilirrubinas e creatinina. Os autoanticorpos foram coletados no início do estudo: FAN, AML, anti-LKM1 e anti-LC1 detectados por imunofluorescência indireta em substratos de tecido de roedor murino (rim, fígado e estômago) e anti-SLA/LP por ELISA (INNOVA e/ou Euroimmun).

O exame ultrassonográfico de abdome foi realizado semestralmente e a biópsia hepática antes do início e ao término do estudo, para avaliação histológica. No estudo, a biópsia foi realizada antes do início do estudo em 46 participantes (80,7%) (Tabela 2). Os pacientes que entraram no estudo após recidiva pela suspensão do tratamento, não se submeteram à nova biópsia. Nos outros, o procedimento não foi realizado devido à apresentação grave da doença ou à recusa do paciente. A avaliação histológica foi feita por patologistas treinados e experientes, utilizando os critérios da Sociedade Brasileira de Patologia para avaliar inflamação e fibrose ⁽¹⁰⁹⁾ (Anexo 2).

3.9 Análise estatística

3.9.1 Tamanho Amostral

O cálculo do tamanho amostral foi baseado na hipótese de não-inferioridade considerando o percentual histórico de remissão da azatioprina de 70% e margem de não-inferioridade de 15% para cloroquina. Dessa forma, a partir de nível de significância de 5%, o tamanho amostral resultante corresponderia a 122 indivíduos por grupo. Geralmente, estudos de não-inferioridade requerem grandes tamanhos amostrais, o que se torna um desafio quando são estudadas doenças pouco comuns, como a HAI. Ademais, a taxa de remissão histológica foi apenas de 35% em coorte brasileira o que poderia mudar o tamanho do cálculo amostral ⁽¹⁶⁾. Dessa forma, optou-se por definir o tamanho amostral pelo tempo do estudo de nove anos e passou-se a usar uma amostra de conveniência, com randomização de aproximadamente 35 pacientes para cada grupo.

3.9.2 Análise das variáveis

As variáveis quantitativas foram expressas por meio de média $\pm$ desvio padrão, enquanto as variáveis qualitativas foram expressas por percentual (frequência). Intervalos de confiança 95% foram calculados para a dose média de prednisona na remissão bioquímica e histológica. Os grupos foram comparados pelo teste de Fisher para as variáveis qualitativas e pelo teste de Mann-Whitney para as variáveis quantitativas, com a normalidade verificada pelo teste de Anderson-Darling.

A curva de remissão definida desde o início do tratamento até a ocorrência da remissão no período máximo de três anos foi construída a partir do método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste LogRank. As estimativas de razão risco de remissão e seu respectivo intervalo de confiança 95% foram obtidos pela regressão de Cox simples e múltipla. A suposição de proporcionalidade dos riscos foi verificada mediante resíduos de Schoenfeld. Os resultados foram considerados significantes para valores de $p < 0,05$. Todos os cálculos foram realizados pelo pacote estatístico R (R Core Team, 2014).

4 RESULTADOS

|

4 RESULTADOS

4.1 Características gerais dos participantes do estudo

No início do estudo, havia sido sorteada a ordem dos tratamentos para inclusão de 70 pacientes. Contudo, durante nove anos de inclusão, foram selecionados 57 para randomização com indicação de tratamento da HAI: 31 deles receberam azatioprina e prednisona e 26 cloroquina e prednisona. Não houve diferença nas características clínicas, bioquímicas e histológicas no início do estudo (Tabela 1). Esse foi o primeiro tratamento para 33 participantes (57,9%), e retratamento para 24 (42%) que tiveram remissão histológica prévia com azatioprina e prednisona, com recidiva da doença após a suspensão do tratamento. A terapia prévia dos pacientes tratados previamente à inclusão no estudo foi caracterizada no Anexo 3.

4.2 Desfecho primário

Os participantes foram incluídos durante nove anos, com tempo de seguimento variável. A randomização e o acompanhamento durante o protocolo encontram-se na Figura 3. No cenário de aumento pontual das enzimas hepáticas durante o tratamento (*flare*), o período de seis meses remissão bioquímica e 18 meses para biópsia hepática foi reiniciado. O

seguimento terminou em 2015, quando o último paciente randomizado foi submetido ao procedimento para avaliação histológica.

Tabela 1 - Características clínico-laboratoriais de entrada dos participantes no estudo

	Grupo AZA + PD (n=31)	Grupo CQ + PD (n=26)	P
Gênero feminino	24 (77,4%)	21 (88,5%)	0,319
Idade	37,23 ± 17,63	37,54 ± 15,99	0,893
Exames laboratoriais de bioquímica e função hepática prévios ao estudo			
AST (U/L) (VR: <31♀/<37♂)	352,47 ± 68,85	306,31 ± 67,14	0,85
ALT(U/L) (VR: <31♀/<41♂)	323,03 ± 53,31	302,23 ± 65,43	0,48
FA (U/L) (VR: <104♀/<120♂)	187,1 ± 29,75	135,52 ± 14,3	0,43
GGT (U/L) (VR: <36♀/<61♂)	195,59 ± 37,55	185,76 ± 35,98	0,808
Albumina (g/dL) (VR: 3,4-4,8)	3,83 ± 0,12	3,68 ± 0,12	0,379
Bilirrubina total (mg/dL) (VR: 0,2-1,0)	3,53 ± 1,07	2,64 ± 0,68	0,477
INR (VR: 0,95-1,2)	1,24 ± 0,2	1,23 ± 0,25	0,657
Variáveis relacionadas à hepatite autoimune			
Fibrose avançada (F3/F4)*	19/27 (70,4%)	15/21 (71,4%)	1
Inflamação periportal moderada a acentuada no diagnóstico da doença	26/27 (96,3%)	16/21 (76,2%)	0,73
Gamaglobulina (g/dL) (VR: 0,7-1,5)	2,63 ± 0,26	2,78 ± 0,29	0,814
IgG (mg/dL) (VR: 952-1538)	2516 ± 388,06	3571,33 ± 711,62	0,287
HAI tipo 1	24 (77,41%)	21 (80,77%)	1
HAI tipo 2	3 (9,68%)	2 (7,69%)	1
Anti-SLA/LP	9 (29,03%)	8 (30,77%)	1
Tratamento inicial	19 (61,3%)	14 (53,85%)	0,794

*Dos 31 pacientes do grupo AZA + PD, 27 pacientes com biópsia inicial e 21 no grupo CQ +PD.

ALT: alanina aminotransferase, Anti-SLA/LP: anticorpo antiantígeno hepático solúvel fígado-pâncreas, AST: aspartato aminotransferase, AZA: azatioprina, CQ: difosfato de cloroquina, FA: fosfatase alcalina, GGT: gamaglutamiltranspeptidase, HAI: hepatite autoimune, IgG: imunoglobulina G, INR: índice internacional normatizado, PD:prednisona, VR: valor de referência.

Figura 3 - Diagrama de fluxo de pacientes randomizados no estudo

A taxa de remissão bioquímica até o sexto mês contínuo de tratamento em ambos os grupos encontra-se na Tabela 2. A dose média da azatioprina na obtenção da remissão foi de $89,29 \pm 5,34$ mg/dia e a de cloroquina manteve-se fixa em 250 mg/dia. As doses de prednisona estão descritas na Tabela 2, sem diferença significativa quanto às doses do corticoide entre os grupos estudados.

Após 18 meses de manutenção de remissão bioquímica foi indicada a realização da biópsia hepática para avaliação histológica. Entretanto, onze pacientes não realizaram o procedimento pelas razões descritas na Figura 3.

No grupo da azatioprina, dos 21 pacientes que mantiveram remissão bioquímica, 16 submeteram-se à biópsia. No grupo da cloroquina, dos 14 com manutenção da resposta bioquímica, oito foram submetidos ao procedimento. Não houve diferença estatística significativa nas taxas de remissão histológica entre os grupos de estudo (Tabela 2). A dose média de azatioprina foi de $82,5 \pm 6,51$ mg/dia e a de cloroquina mantida em 250 mg/dia. Em relação às doses de prednisona, não houve diferença significativa entre os grupos (Tabela 2).

Tabela 2 - Avaliação da remissão bioquímica e histológica nos grupos do estudo com doses de prednisona nas remissões

Dados avaliados	Grupo AZA + PD	Grupo CQ + PD	P
Remissão bioquímica	21/31 (67,74%)	14/26 (53,85%)	0,41
Prednisona (mg/dia)	13,89 (IC95%:6,76-7,87)	10,25 (IC95%: 9,38-11)	0,18
Remissão histológica (remissão completa)	10/31 (32,26%)	4/26 (15,38%)	0,22
Remissão histológica nos pacientes com RB	10/21 (47,6%)	4/14 (28,57%)	0,34
Prednisona (mg/dia)	10,67 (IC 95%: 9,6-11,7)	11,67 (IC95%:9,8-13,1)	0,25
Tempo médio para obter remissão histológica (dias)	1181,58 $\pm$ 461,48	1092,57 $\pm$ 522,46	0,61

AZA: azatioprina, CQ: difosfato de cloroquina, PD: prednisona, RB: remissão bioquímica

A curva de tempo para a remissão completa foi definida pelo período de tempo desde o início do tratamento até a ocorrência desse evento no período máximo de três anos. Cada queda na curva do Gráfico 1 correspondeu a uma remissão histológica. Não houve diferença significativa entre os grupos.

AZA: azatioprina, CQ: difosfato de cloroquina, PD: prednisona

Gráfico 1 - Curva de remissão completa no período máximo de até três anos em uso das drogas do protocolo

No estudo, realizou-se a comparação da atividade inflamatória periportal dos pacientes submetidos à biópsia hepática pré e pós-protocolo, no intuito de avaliar regressão da inflamação após imunossupressão, incluindo os pacientes que não obtiveram remissão histológica (Tabela 3).

Tabela 3 - Evolução da atividade inflamatória periportal nos pacientes submetidos à biópsia hepática antes e após o tratamento

	Grupo AZA + PD (n=17)	Grupo CQ + PD (n=7)	P
Piora	0	0	
Inflamação mantida	2 (11,8%)	2 (28,6%)	0,47
Melhora da inflamação	15 (88,2%)	5 (71,4%)	

AZA: azatioprina, CQ: difosfato de cloroquina, PD: prednisona

Como no estudo havia pacientes virgens de tratamento e recidivantes, foi realizada a análise da remissão bioquímica e histológica nos diferentes grupos, de acordo com o gráfico 2.

Gráfico 2 - Avaliação da remissão bioquímica e histológica dos participantes virgens de tratamento e dos recidivantes. Em cada coluna, foi descrito e comparado o percentual das respostas entre os da azatioprina e cloroquina, respectivamente

4.3 Desfechos Secundários

Durante o estudo, os participantes foram excluídos no grupo da azatioprina devido a gestação (3), perda de seguimento (4), resposta parcial (4) e efeitos adversos (2) (Figura 3). No grupo da cloroquina, houve casos de gestação (2), perda de seguimento (1), resposta parcial (4), falha terapêutica (4), efeito adverso (4) e deterioração clínica (3). Entre os casos de deterioração, um deles ocorreu por infecção grave (Figura 3).

4.4 Avaliação da segurança e de efeitos adversos

Em geral, os regimes estudados foram bem tolerados. No estudo, as reações adversas a medicamentos foram classificadas de acordo com a gravidade, conforme a classificação CTCAE (*Common Terminology Criteria for Adverse Events*) em: grau 1 (leve), grau 2 (moderado), grau 3 (grave), grau 4 (ameaçador a vida) e grau 5 (fatal) (Anexo 5).

Os efeitos colaterais certamente relacionados à prednisona estão relacionados e classificados na Tabela 4. Houve um caso de suspensão da droga devido a psicose relacionada à corticoterapia. Casos de diabetes, hipertensão, dislipidemia e obesidade foram observados durante o estudo em ambos os grupos, com possibilidade da participação da prednisona no desenvolvimento dos mesmos. Embora as doses de prednisona tenham sido semelhantes entre os grupos, as comorbidades supracitadas foram menos

diagnosticadas no grupo da cloroquina, com tendência à significância estatística para diabetes e dislipidemia (Tabela 5).

Tabela 4 - Reações adversas às drogas de estudo, de acordo com a classificação CTCAE

Efeito adverso	Azatioprina (n=31)	Cloroquina (n=26)	Prednisona (n=57)
Grau 3			
Oftalmológico	0	2 (7,7%)	0
Psicose	0	0	1 (1,7%)
Grau 2			
Dermatológico	0	2 (7,7%)	0
Neuropatia	0	1 (3,8%)	0
Oftalmológico	0	2 (7,7%)	0
Cefaléia	0	0	1 (1,7%)
Diabetes de difícil controle	0	0	1 (1,7%)
Hipertensão de difícil controle	0	0	1 (1,7%)
Intolerância gástrica	1 (3,2%)	0	0
Grau 1			
Dermatológico	1 (3,2%)	0	0
Oftalmológico	0	2 (7,7%)	0

CTCAE: *Common Terminology Criteria for Adverse Events*

Os efeitos adversos relacionados à azatioprina estão descritos na Tabela 4. Não houve caso de citopenia grave. No entanto, o tratamento foi descontinuado em um paciente devido à intolerância gástrica. Em relação a cloroquina, houve suspensão da droga em quatro casos: dois por efeitos dermatológicos e dois por deposição de drogas na mácula retiniana (Tabela 4). Nos quatro casos de suspensão, não havia relato de uso prévio da droga e o tempo seguimento variou de 151 a 696 dias. Houve suspeita de maculopatia em seis casos, mas o diagnóstico pelo exame do fundo do olho

foi confirmado em dois pacientes, sem perda visual importante ou cegueira em nenhum deles.

Tabela 5 - Comorbidades dos participantes durante o estudo, possivelmente relacionadas ao uso de prednisona

Comorbidades	AZA + PD	CQ + PD	P
Obesidade (%)	29,03	11,54	0,19
Dislipidemia (%)	38,71	15,38	0,07
Diabetes (%)	25,81	7,69	0,09
Hipertensão (%)	38,71	23,08	0,26

AZA: azatioprina, CQ:difosfato de cloroquina, PD: prednisona

4.5 Seguimento dos participantes após saída do protocolo

Durante o período do estudo, houve seguimento dos participantes excluídos do ensaio por falha terapêutica ou efeito adverso para avaliar resposta com nova terapia instituída. Até o término do estudo em 2015, no grupo da cloroquina observou-se resposta completa em três casos com uso de azatioprina e prednisona e seis mantiveram ausência de remissão após uso do tratamento padrão da HAI. Os dois pacientes do grupo da azatioprina suspensos por efeito adverso não alcançaram resposta completa com o outro regime imunossupressor (Tabela 6).

Tabela 6 - Evolução dos pacientes que saíram do estudo por falha terapêutica ou eventos adversos, com a nova terapia administrada

Pacientes	Motivo da suspensão do protocolo	Tratamento pós-protocolo (mg/dia)	RH pós-protocolo
Grupo AZA + PD			
1	Efeito adverso	MMS 720 +PD 10	Não
2	Efeito adverso	CsA 125+AZA 75	Não
Grupo PD + CQ			
2	Efeito adverso	PD 12,5+AZA 75	Não
3	Efeito adverso	PD 10 +AZA 100	Não
4	Efeito adverso	PD 10 +AZA 75	Sim
5	Efeito adverso	PD 7,5+AZA 75	Sim
6	Falha terapêutica	PD 10+AZA 100	Não
7	Falha terapêutica	PD 12,5 +AZA 125	Não
8	Falha terapêutica	PD 15 +AZA 125	Não
9	Falha terapêutica	PD 7,5+AZA 75	Sim

AZA:azatioprina, CQ: difosfato de cloroquina, CsA: ciclosporina, MMS: micofenolato de sódio, PD: prednisona, RH: remissão histológica.

Os pacientes que não obtiveram resposta completa, submetidos ou não a biópsia hepática foram acompanhados e houve casos de remissão histológica no grupo que havia recebido cloroquina e prednisona (Figuras 4 e 5). Entre eles, quatro utilizaram a combinação de azatioprina, cloroquina e prednisona. Desses pacientes, dois deles tinham apresentado resposta prévia utilizando azatioprina e prednisona com doses mais elevadas e recidivaram após a suspensão do tratamento, tendo sido incluídos no presente estudo. Um desses pacientes havia obtido resposta completa com azatioprina 125 mg/dia e prednisona 12,5 mg/dia e, após a combinação das 3 drogas, a resposta foi alcançada com doses menores de azatioprina (75 mg/dia) e de prednisona (10 mg/dia). O outro paciente havia atingido resposta completa com azatioprina 125 mg/dia e prednisona 12,5 mg/dia, e após o uso concomitante de cloroquina, as doses foram de 50 mg/dia e 12,5 mg/dia, respectivamente (Figura 4).

AZA:azatioprina, PD: prednisona, RH: remissão histológica

Figura 4 - Análise pós-protocolo dos pacientes que não obtiveram remissão histológica com prednisona e cloroquina no estudo

AZA:azatioprina, PD: prednisona, RH: remissão histológica

Figura 5 - Análise pós-protocolo dos pacientes que não obtiveram remissão histológica com prednisona e azatioprina no estudo

5 DISCUSSÃO

|

5 DISCUSSÃO

Esse estudo randomizado foi realizado no intuito de avaliar o benefício da associação de cloroquina e prednisona no tratamento da HAI. Salienta-se que a HAI é doença pouco comum, o que dificulta a alocação de grande número de indivíduos para iniciar tratamento. Dessa forma a inclusão foi realizada por período de tempo, ao longo de nove anos. Os grupos estudados foram homogêneos em relação às características clínico-laboratoriais e compostos por pacientes cuja maioria era virgem de tratamento. A maior prevalência de HAI tipo 1 está de acordo com a literatura, porém houve maior frequência do anticorpo anti-SLA/LP, que é mais específico para HAI e está relacionado a apresentações mais graves, com pior prognóstico, com maior chance de recidiva ^(14, 115, 116).

A remissão completa ao tratamento da HAI, que inclui as remissões bioquímica e histológica, foi comparada entre os grupos sem diferença estatística. Na literatura, a melhora bioquímica até seis meses de tratamento padrão com azatioprina e prednisona ocorre em aproximadamente 90% dos casos. A remissão completa é variável, com relatos de 20-40%, chegando a 70-80% ^(1, 4, 13, 16). No presente estudo, os indivíduos submetidos à terapia padrão obtiveram resultado divergente da literatura, e apenas 67,7% alcançaram resposta bioquímica e 34,5% resposta histológica. A baixa frequência das respostas citadas corrobora a revisão sistemática publicada em 2010, com análise de estudos randomizados, em que a taxa de remissão

com tratamento padrão foi próxima a 50% ⁽¹¹⁷⁾, e o estudo prévio que analisou uma coorte do HC-FMUSP, composta por 268 portadores de HAI acompanhados durante 20 anos, com obtenção de 35% de remissão histológica ⁽¹⁶⁾. A discrepância entre as taxas de remissão relatadas na literatura podem estar relacionadas à definição de remissão completa, que seria a normalização da bioquímica hepática e inatividade inflamatória na biópsia hepática ⁽¹¹⁸⁾, pois diversos estudos consideraram resposta completa a normalização de enzimas hepáticas e IgG por mais de dois anos, com isso obtendo maiores taxas de resposta com diferentes tratamentos ^(45, 53, 119).

Apesar da recomendação da AASLD e EASL de redução semanal de corticosteroide na indução da remissão bioquímica, foi optado pelo desmame mensal da droga conforme conduta do ambulatório de doenças autoimunes e metabólicas do HC-FMUSP com respaldo da SBH, no intuito aumentar a taxa de resposta ⁽¹²⁾. Apesar da conduta relatada, a ocorrência de remissão completa foi menor do que apresentada em publicações europeias e americanas. Estudo publicado por Czaja *et al* (2002) comparou coorte americana e brasileira de portadores de HAI tipo 1, e observou início da doença mais precoce, maiores níveis séricos de aminotransferases e gamaglobulinas na apresentação inicial, maior ocorrência do anticorpo antimúsculo liso e do HLA DR13 na população brasileira, o que pode explicar os dados discrepantes em relação à resposta ao tratamento imunossupressor ⁽¹⁵⁾. Outros dados relevantes do presente estudo são a presença de anti-SLA em cerca de 30% dos pacientes, apresentação da doença com atividade periportal moderada a acentuada e fibrose avançada

ao início do tratamento em mais de 70% dos pacientes, o que poderia contribuir para a baixa taxa de remissão, corroborando estudo prévio de Kirstein M *et al.* ⁽¹²⁰⁾.

Ao se comparar a resposta entre os pacientes virgens de tratamento e os recidivantes prévios, houve maior taxa de remissão bioquímica e histológica no grupo de recidivantes, sem diferença estatística entre os usuários de azatioprina ou cloroquina. Na literatura, é relatado que os recidivantes tem maior chance de tornarem-se cirróticos ⁽¹²¹⁾, porém a chance de obter remissão da HAI não é diferente ⁽¹¹⁷⁾.

Estudos para avaliar terapias alternativas para portadores de HAI nas últimas décadas evidenciaram melhora clínico-laboratorial com determinadas drogas: budesonida, ácido ursodesoxicólico, micofenolato, inibidores de calcineurina, inibidores de m-TOR, entre outras. Dessas, apenas budesonida, ácido ursodesoxicólico e micofenolato foram comparadas à terapia padrão ^(45, 53, 73). Entretanto, ao contrário do presente estudo, na maioria dos trabalhos não houve randomização, relato da dose de corticosteroide utilizada, bem como da taxa de remissão completa como definida na literatura ⁽¹¹⁸⁾. O uso de antimaláricos está bem estabelecido em doenças reumatológicas autoimunes, principalmente como drogas adjuvantes. Nos portadores de lúpus eritematoso sistêmico, com esses medicamentos há retardo de exacerbações de sintomas cutaneoarticulares e evidências de melhora do perfil lipídico, de efeito protetor contra eventos trombóticos e de aumento de sobrevida ^(85, 89, 122). As diretrizes do Colégio Americano de Reumatologia recomendam o uso rotineiro dos antimaláricos

no tratamento do lúpus ⁽¹²³⁻¹²⁵⁾. Na artrite reumatoide, os antimaláricos são drogas modificadoras de atividade da doença e são utilizados geralmente em associação com metotrexato e sulfassalazina, possibilitando menor dose das drogas e menos efeitos adversos associados ⁽¹²⁶⁻¹²⁸⁾.

No presente estudo, avaliando a associação de cloroquina e corticosteroide no tratamento da HAI, as taxas de remissão bioquímica e histológica com essas drogas foram menores em comparação com o grupo controle, porém sem significância estatística. Na avaliação da resposta histológica apenas em pacientes submetidos à biópsia hepática, a taxa foi semelhante entre os grupos. Apesar da ausência de remissão histológica em pacientes submetidos aos tratamentos propostos, a análise da evolução da atividade inflamatória pela biópsia demonstrou que nenhum paciente apresentou piora da inflamação e a maioria deles obteve melhora após 18 meses de remissão bioquímica, em ambos os grupos de estudo. Tais achados demonstram que a associação de antimalárico e corticosteroide pode ter um papel no tratamento da HAI.

Os resultados obtidos pela cloroquina poderiam ter o viés de dose mais elevada de corticosteroides. Todavia, a dose de prednisona utilizada, tanto para obtenção de resposta bioquímica quanto para a histológica, foi semelhante entre os grupos, porém mais elevada do que a preconizada na literatura. As diretrizes da AASLD e EASL sugerem a dose de manutenção da prednisona na terapia combinada de até 10 mg/dia ^(1, 4). No presente estudo, doses mais elevadas foram necessárias para alcançar e manter a remissão bioquímica, porém sem diferença estatística entre os grupos.

A avaliação da adesão ao tratamento e de efeitos adversos foi realizada em todas as consultas. No grupo da cloroquina, os pacientes que saíram do protocolo por deterioração clínica foram retirados no início do tratamento, quando a dose de prednisona ainda não havia sido reduzida para menos de 20 mg/dia, e a deterioração não foi associada ao uso de cloroquina. A perda de seguimento por gestação ocorreu em ambos os grupos, apesar de nenhuma das drogas serem contraindicadas nesse período. Optou-se pela retirada do protocolo para uso de monoterapia com prednisona, como realizado para as pacientes em uso de azatioprina, sendo essa a conduta adotada para todas as gestantes do ambulatório de doenças autoimunes e metabólicas do HC-FMUSP e recomendada pela Sociedade Brasileira de Hepatologia (SBH) ^(12, 108).

Os participantes que não obtiveram remissão completa durante o estudo receberam outras terapias e foram acompanhados para avaliação da resposta. No grupo da cloroquina, oito desses pacientes apresentaram posterior remissão histológica, entre eles quatro com associação de prednisona, azatioprina e cloroquina. Na análise desses casos observou-se que eles não desenvolveram efeitos adversos e que as doses das drogas variaram entre 7,5-12,5 mg/dia de prednisona e entre 75-125 mg/dia de azatioprina, mantendo-se dose fixa de 250 mg/dia de cloroquina. Ademais, dois deles tinham apresentado resposta prévia utilizando azatioprina e prednisona e após a combinação das 3 drogas, a resposta foi alcançada com doses menores de azatioprina e prednisona. Tal achado evidenciou a possibilidade do uso de antimaláricos em terapia combinada, como nas

doenças reumatológicas autoimunes, o que pode minimizar as doses e os efeitos colaterais de corticosteroides e de azatioprina no tratamento da HAI. Outra possibilidade interessante seria o uso de antimaláricos como opção anterior à administração de outro imunossupressor naqueles pacientes que não atingiram remissão bioquímica ou histológica. Entretanto, estudo com número maior de pacientes refratários ao tratamento padrão da HAI, com e sem adição de cloroquina seria necessário para confirmar essa hipótese.

Nesse estudo, observou-se elevada prevalência de comorbidades como obesidade, dislipidemia, diabetes e hipertensão em ambos os grupos. Embora a dose média de prednisona fosse semelhante entre os grupos, houve menor frequência de diabetes e de dislipidemia no grupo da cloroquina, com tendência à significância estatística. Estudos randomizados demonstraram efeitos metabólicos favoráveis dos antimaláricos, destacando-se melhora do perfil lipídico e glicídico ^(129, 130). Os mecanismos de ação no metabolismo dos lípidos e carboidratos ainda não estão bem definidos, podendo incluir alterações no metabolismo da insulina e de sinalização intracelular, redução da síntese hepática de colesterol e supra-regulação dos receptores de lipoproteína de baixa densidade (LDL). O efeito antidiabetogênico da cloroquina foi descrito inicialmente na década de 80, quando foi observada redução abrupta dos níveis glicêmicos após introdução da droga em alguns pacientes ⁽¹³¹⁾. Desde então, autores têm reportado efeito semelhante, com relato de menor incidência de diabetes com uso de hidroxiclороquina ^(132, 133). Em estudo retrospectivo com 1.127 portadores de artrite reumatóide, o uso de hidroxiclороquina foi associado a

redução significativa na incidência de diabetes ⁽¹³⁴⁾. A menor frequência de síndrome metabólica em pacientes lúpicos usuários de hidroxicloroquina foi relatada, com melhora da dislipidemia já nos meses iniciais de uso ^(135, 136). A taxa de redução de colesterol total, de triglicerídeos, com aumento de lipoproteína de alta densidade (HDL), foi maior nos indivíduos com corticoterapia associada ⁽¹³⁷⁻¹⁴²⁾. Os resultados do presente estudo corroboram as informações da literatura, com tendência a menor prevalência de diabetes e de dislipidemia nos usuário de cloroquina, o que constituiria um benefício do antimalárico no tratamento da HAI, pois sabidamente esses pacientes submeter-se-ão ao uso crônico de corticosteroides com o risco de desenvolverem seus efeitos colaterais.

Houve efeitos adversos com o uso da cloroquina, destacando-se manifestações oftalmológicas e dermatológicas. Dois pacientes apresentaram efeitos na pigmentação cutânea, que ocasionaram suspensão da droga e quatro tiveram suspeita de acúmulo inicial da droga na mácula retiniana, com confirmação e suspensão em dois deles. O exame diagnóstico foi o de fundo de olho, não tendo sido realizados exames de maior acurácia como a eletrorretinografia multifocal, autofluorescência ou a tomografia de coerência óptica de domínio espectral, por não serem disponibilizados em tempo hábil pelo HC-FMUSP ⁽¹⁰⁴⁾. As publicações envolvendo portadores de lúpus e artrite reumatoide usuários dos antimaláricos sugerem risco de depósito da droga na mácula retiniana de 1% após cinco anos, mais comum com uso de cloroquina, sendo recomendada a avaliação oftalmológica anual após cinco anos de uso ⁽¹⁰⁴⁾. Apesar da

baixa frequência relatada, os pacientes deste estudo tiveram suspeita de depósito da droga na mácula retiniana em menor período de tempo, variando entre 151 a 696 dias. Por outro lado, nove pacientes do estudo realizaram cloroquina previamente por período prolongado e não apresentaram efeito adverso relacionado ao antimalárico.

Fatores relacionados à toxicidade dos antimaláricos têm sido pesquisados e autores relatam associação da mesma ao gene ABCA4^(143, 144). Atualmente, sabe-se que o uso da hidroxicloroquina propicia menos efeitos adversos em relação à cloroquina e a dose da droga é proporcional à ocorrência dos mesmos. Nos casos em que a dose de cloroquina e hidroxicloroquina excedem 2,5 mg/kg/dia e 5 mg/kg/dia respectivamente o risco de efeitos adversos é aparentemente maior^(103, 145, 146). No período inicial do presente estudo, a farmácia do HC-FMUSP fornecia apenas cloroquina em comprimidos de 250 mg e por esse motivo ela foi o antimalárico de escolha, sendo a posologia a mesma independentemente do peso. No grupo da cloroquina, houve limitação da avaliação de alguns pacientes por período maior de tempo pelo surgimento de intolerância à droga ou efeitos adversos. Dessa forma, se a hidroxicloroquina pudesse ter sido uma opção de antimalárico nesse estudo ou se a dose de cloroquina fosse ajustada pelo peso como preconizado pela literatura com dose diária máxima de 2,3 mg/kg⁽¹⁰⁴⁾, possivelmente seriam diagnosticados menos efeitos adversos e maior número de pacientes usariam a medicação por tempo prolongado. Outra possível razão para a maior frequência de efeitos colaterais na população desse estudo pode ter sido o fato dos portadores de

HAI terem fibrose hepática importante, em particular no grupo da cloroquina em que 67% dos pacientes eram cirróticos. Por outro lado, há estudos com uso de cloroquina em portadores de hepatopatia crônica em que não houve efeitos adversos significativos ^(38, 147, 148).

Estudos têm sido realizados no intuito de minimizar os efeitos adversos dos antimaláricos, pois são drogas baratas, com boa relação custo x efetividade, usada amplamente em doenças reumatológicas autoimunes há cerca de seis décadas. Há relato na literatura de que a proteína de transferência do α -tocoferol (α -TTP) desempenha papel na proteção da toxicidade de cloroquina, impedindo o acúmulo da droga em organelas ácidas, como o lisossomo, *in vitro* e *in vivo*. A proteína é expressa principalmente nos hepatócitos e regula os níveis de tocoferol no plasma. O tratamento com cloroquina provoca translocação da α -TTP para a superfície dos lisossomos e o acúmulo lisossomal de cloroquina foi suprimido em ratos com maior expressão de α -TTP, o que pode explicar o efeito protetor contra a toxicidade da droga ⁽¹⁴⁹⁾. A dosagem do nível sérico de antimaláricos tem sido reportada para avaliação de dose-efeito, porém não há evidência de associação entre o nível sérico e ocorrência de toxicidade, não sendo a mensuração realizada rotineiramente ^(105, 146). Atualmente, apenas o uso de doses ajustadas pelo peso e o rastreio oftalmológico são recomendados na prevenção da toxicidade associada aos antimaláricos ^(83, 94, 104).

O presente estudo apresentou limitações. O uso de cloroquina com posologia fixa independentemente do peso pode ter sido o motivo dos efeitos adversos e consequente retirada de pacientes do protocolo. Ademais,

o número de pacientes envolvidos no estudo foi menor do que calculado estatisticamente para concluir a não-inferioridade de cloroquina no tratamento da HAI. Pelo fato da HAI ser uma doença incomum, seria essencial maior tempo de estudo para alocar o número calculado de participantes.

Em contrapartida, esse foi o primeiro estudo randomizado avaliando a possibilidade do uso de antimalárico como adjuvante na indução e manutenção da remissão no tratamento da HAI, em comparação ao tratamento padrão. Houve remissão bioquímica e histológica semelhante entre os grupos, sem diferença estatística da dose de corticosteroide, e quatro pacientes obtiveram remissão histológica posterior com cloroquina, azatioprina e prednisona.

6 CONCLUSÃO

|

6 CONCLUSÃO

- 1 A taxa de remissão bioquímica e histológica com o uso combinado de cloroquina e prednisona foi semelhante à da terapia padrão de prednisona e azatioprina.
- 2 A dose de prednisona para obtenção das remissões bioquímicas e histológicas foi semelhante entre os grupos.
- 3 No seguimento dos pacientes que não obtiveram remissão completa durante o estudo, houve três casos de remissão posterior no grupo da azatioprina e oito casos no grupo da cloroquina. Destes, quatro pacientes alcançaram remissão com terapia tripla: cloroquina, azatioprina e prednisona.
- 4 Houve mais efeitos adversos no grupo da cloroquina. Contudo, constatou-se menor ocorrência de comorbidades associadas à corticoterapia neste grupo em relação à terapia padrão, com tendência à significância estatística nos casos de diabetes e dislipidemia.

7 ANEXOS

|

Anexo 1 - Critérios Diagnósticos Modificados da HAI pelo Grupo Internacional de Hepatite autoimune. Adaptado de Alvarez et al.⁽³⁾

Parâmetros	Pontuação
Sexo Feminino	+2
FA/AST ou ALT (X acima do VN)	
< 1,5	+2
1,5-3,0	0
>3,0	-2
Gamaglobulina/IgG (número de vezes acima do VN)	
>2,0x	+3
1,5-2,0x	+2
1,0-1,5x	+1
<1,0x	0
Autoanticorpos (FAN/AML/LKM1)	
>1:80	+3
1:80	+2
1:40	+1
< 1:40	0
Outros marcadores (Anti-SLA/LP, anti-actina, anti-LC1, p-ANCA)	+2
Antimitocôndria+	-4
Marcadores virais	
Anti-VHA IgM, AgHBs, anti-HBc IgM +	-3
Anti-VHC+ e RNA do VHC +	-3
Anti-VHA IgM, AgHBs, anti-HBc IgM ou anti-VHC negativos	+3
Uso recente de drogas hepatotóxicas positiva/negativa	-4/+1
Consumo alcoólico	
< 25g/dia	+2
>60g/dia	-2
Outra doença autoimune no paciente ou em familiar de primeiro grau	+2
Histologia:	
Hepatite de Interface	+3
Rosetas	+1
Plasmócitos	+1
Nenhuma das alterações acima	-5
Alterações biliares (de CBP e CEP)	-3
Alteração sugestiva de outra etiologia	-3
HLA DR3 ou DR4 DR7 ou DR13 (variações regionais)	+1
Resposta Terapêutica	
Completa	+2
Recidiva durante ou após suspensão do tratamento após resposta completa	
Inicial	+3

Interpretação: Antes do tratamento: > 15: diagnóstico definitivo, ≤ 15 - 10: provável,
Após tratamento: > 17: diagnóstico definitivo, ≤ 17 - 12: provável

Anexo 2 - Estadiamento das hepatites crônicas de acordo com os critérios de da Sociedade Brasileira de Patologia. Adaptado de Gayotto ⁽¹⁰⁹⁾.

Estadiamento	0	1	2	3	4
Estrutural	arquitetura lobular normal	expansão fibrosa portal	expansão fibrosa e septos porta-porta	septos porta-porta e porta-centro, esboços nodulares	cirrose ou predomínio de áreas nodulares
Portal ou septal	raros linfócitos	aumento discreto de linfócitos	aumento moderado de linfócitos	aumento acentuado de linfócitos	aumento muito acentuado de linfócitos
Periportal ou peri-septal	ausência de lesões de interface	Extravasamento de linfócitos para a interface (<i>spill-over</i>)	necrose em saca-bocados discreta ¹	necrose em saca-bocados moderada ²	necrose em saca-bocados acentuada ³
Parenquimatosa	hepatócitos normais, isomorfos	alterações discretas de hepatócitos (tumefação ou retração acidofílica); infiltrado linfocitário; raros focos de necrose	necrose focal de hepatócitos com agregados linfocitários em numerosos sítios	necrose focal de hepatócitos em muitos sítios; áreas limitadas de necrose confluyente	necrose focal de hepatócitos em muitos sítios; necrose confluyente extensa ou múltipla

¹pequenas áreas de necrose em poucos espaços-porta; ²extensas áreas de necrose em poucos espaços-porta ou pequenos focos em muitos espaços-porta; ³

extensas áreas de necrose em muitos espaços-porta

Anexo 3 - Aprovação da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq)

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CAPPesq

Nº Protocolo: 0571/04

Título: Uso da Cloroquina em Associação com corticosteróide no tratamento inicial da Hepatite auto-imune

Pesquisador Responsável: Eduardo Luiz Rachid Cançado

Pesquisador Executante: Lydia Teófilo de Moraes Falcão

Finalidade Acadêmica: Graduação em Ciências em Gastroenterologia

Departamento: Gastroenterologia

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, **APROVOU / TOMOU CIÊNCIA** na sessão datada de 11.03.15, do(s) documento(s) abaixo mencionado(s):

Carta datada de 29/01/15 - Solicitação de substituição de Pesquisador Executante para LYDIA TEÓFILO DE MORAES FALCÃO, que irá se matricular no programa de Pós-Graduação em Ciências em Gastroenterologia da FMUSP

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: **a)** desenvolver o projeto conforme delimitado; **b)** elaborar e apresentar relatórios parciais e final; **c)** apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; **d)** manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; **e)** encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; **f)** justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

CAPPesq, 11 de Março de 2015

Prof. Dr. Alfredo José Mansur
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

Anexo 4 - Participantes com remissão histológica prévia ao estudo que recidivaram após suspensão da imunossupressão

Imunossupressão prévia com respectiva dose (mg/dia)			
PCT	Randomização atual para uso de AZA e PD	PCT	Randomização atual para uso de CQ e PD
1	AZA 125 + PD 12,5	13	AZA 100 + PD 10
2	AZA 75 + PD 15	14	AZA 150 + PD 12,5
3	AZA 100 + PD10	15	AZA 62,5 + PD 5
4	AZA 100 + PD 10	16	AZA 75 + PD 7,5
5	AZA 100 + PD 10	17	AZA 75 + PD 7,5
6	AZA 125 + PD 10	18	AZA 75 + PD 15
7	AZA 75 + PD 5	19	AZA 75 + PD 10
8	AZA 75 + PD 10	20	AZA 75 + PD 10
9	AZA 100 + PD 12,5	21	AZA 125 + PD 12,5
10	AZA 150 + PD 5	22	AZA 75 + PD 10
11	AZA 125 + PD 10	23	AZA 125 + PD 12,5
12	AZA 75 + PD 10	24	AZA 75 + PD 10

AZA: azatioprina, CQ: difosfato de cloroquina, PCT: paciente, PD: prednisona

Anexo 5 - Classificação da reação adversa a medicamento, de acordo com o Common Terminology Criteria for Adverse events (CTCAE).

Identificação	Classificação	Descrição
1	Leve	Assintomática ou sintomas leves, somente observação clínica, não requer intervenção
2	Moderada	Intervenção mínima
3	Grave	Clinicamente significativo, mas não ameaçador a vida. Provoca hospitalização ou prolongamento da internação já existente, incapacitante e limitante.
4	Ameaçador a vida	Intervenção urgente
5	Fatal	Morte

8 REFERÊNCIAS

|

8 REFERÊNCIAS

1. Manns MP, Czaja AJ, Gorham JD, Krawitt EL, Mieli-Vergani G, Vergani D, et al. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2010;51(6):2193-213.
2. Johnson PJ, McFarlane IG. Meeting report: International Autoimmune Hepatitis Group. *Hepatology*. 1993;18(4):998-1005.
3. Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB, Bianchi L, Burroughs AK, Cançado EL, et al. International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol*. 1999;31(5):929-38.
4. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Autoimmune Hepatitis. *J Hepatol*. 2015;63:971-1004.
5. Czaja AJ. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis: current status and future directions. *Gut Liver*. 2016;10(2):177-203.
6. Czaja AJ, Carpenter HA. Distinctive clinical phenotype and treatment outcome of type 1 autoimmune hepatitis in the elderly. *Hepatology*. 2006;43(3):532-8.
7. Goldberg AC, Bittencourt PL, Oliveira LC, Ramasawmy R, Marin MLC, Palacios SA, et al. Autoimmune hepatitis in Brazil: an overview. *Scand J Immunol*. 2007;66(2-3):208-16.
8. Lohse AW, Mieli-Vergani G. Autoimmune hepatitis. *J Hepatol*. 2011;55(1):171-82.

9. Zachou K, Muratori P, Koukoulis GK, Granito A, Gatselis N, Fabbri A, et al. Review article: autoimmune hepatitis -- current management and challenges. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013;38(8):887-913.
10. Vergani D, Longhi MS, Bogdanos DP, Ma Y, Mieli-Vergani G. Autoimmune hepatitis. *Semin Immunopathol.* 2009;31(3):421-35.
11. Manns MP, Vogel A. Autoimmune hepatitis, from mechanisms to therapy. *Hepatology.* 2006;43(2 Suppl. 1):S132-44.
12. Bittencourt PL, Cançado ELR, Couto CA, Levy C, Porta G, Silva AEB, et al. Brazilian society of hepatology recommendations for the diagnosis and management of autoimmune diseases of the liver. *Arq Gastroenterol.* 2015;52:15-46.
13. Krawitt EL. Autoimmune hepatitis. *N Engl J Med.* 2006;354(1):54-66.
14. Chen Z-X, Shao J-G, Shen Y, Zhang J, Hua Y, Wang L-J, et al. Prognostic implications of antibodies to soluble liver antigen in autoimmune hepatitis. *Medicine (Baltimore).* 2015;94(23):e953.
15. Czaja AJ, Souto EO, Bittencourt PL, Cancado ELR, Porta G, Goldberg AC, et al. Clinical distinctions and pathogenic implications of type 1 autoimmune hepatitis in Brazil and the United States. *J Hepatol.* 2002;37(3):302-8.
16. Terrabuio DBR. 20 anos de hepatite auto-imune no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006.
17. Liberal R, Mieli-Vergani G. VD. Autoimmune hepatitis: From mechanisms to therapy. *Rev Clin Esp.* 2016;216(7):372-83.

18. Muratori L, Longhi MS. The interplay between regulatory and effector T cells in autoimmune hepatitis: Implications for innovative treatment strategies. *J Autoimmun.* 2013;46:74-80.
19. Oo YH, Hubscher SG, Adams DH. Autoimmune hepatitis: New paradigms in the pathogenesis, diagnosis, and management. *Hepatol Int.* 2010;4(2):475-93.
20. Seki T, Ota M, Furuta S, Fukushima H, Kondo T, Hino K, et al. HLA class II molecules and autoimmune hepatitis susceptibility in Japanese patients. *Gastroenterology.* 1992;103(3):1041-7.
21. Bittencourt PL, Goldberg AC, Cançado EL, Porta G, Carrilho FJ, Farias AQ, et al. Genetic heterogeneity in susceptibility to autoimmune hepatitis types 1 and 2. *Am J Gastroenterol.* 1999;94(7):1906-13.
22. Czaja AJ, Carpenter HA, Moore SB. Clinical and HLA phenotypes of type 1 autoimmune hepatitis in North American patients outside DR3 and DR4. *Liver Int.* 2006;26(5):552-8.
23. Oliveira LC, Porta G, Marin MLC, Bittencourt PL, Kalil J, Goldberg AC. Autoimmune hepatitis, HLA and extended haplotypes. *Autoimmun Rev.* 2011;10(4):189-93.
24. Voo KS, Wang Y-H, Santori FR, Boggiano C, Wang Y-H, Arima K, et al. Identification of IL-17-producing FOXP3+ regulatory T cells in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(12):4793-8.
25. Hammerich L, Heymann F, Tacke F. Role of IL-17 and Th17 cells in liver diseases. *Clin Dev Immunol.* 2011;2011:345803.

-
26. Zhao L, Tang Y, You Z, Wang Q, Liang S, Han X, et al. Interleukin-17 contributes to the pathogenesis of autoimmune hepatitis through inducing hepatic interleukin-6 expression. *PLoS One*. 2011;6(4):e18909.
 27. Schalm SW, Korman MG, Summerskill WH, Czaja AJ, Baggenstoss AH. Severe chronic active liver disease. Prognostic significance of initial morphologic patterns. *Am J Dig Dis*. 1977;22(11):973-80.
 28. Czaja AJ. Features and consequences of untreated type 1 autoimmune hepatitis. *Liver Int*. 2009;29(6):816-23.
 29. Manns MP, Strassburg CP. Therapeutic strategies for autoimmune hepatitis. *Dig Dis*. 2011;29(4):411-5.
 30. Czaja AJ. Safety issues in the management of autoimmune hepatitis. *Expert Opin Drug Saf*. 2008;7(3):319-33.
 31. Feld JJ, Dinh H, Arenovich T, Marcus VA, Wanless IR, Heathcote EJ. Autoimmune hepatitis: effect of symptoms and cirrhosis on natural history and outcome. *Hepatology*. 2005;42(1):53-62.
 32. Dhaliwal HK, Hoeroldt BS, Dube AK, McFarlane E, Underwood JCE, Karajeh MA, et al. Long-term prognostic significance of persisting histological activity despite biochemical remission in autoimmune hepatitis. *Am J Gastroenterol*. 2015;110(7):993-9.
 33. Czaja AJ. Treatment strategies in autoimmune hepatitis. *Clin Liver Dis*. 2002;6(3):799-824.
 34. Murray-Lyon IM, Stern RB, Williams R. Controlled trial of prednisone and azathioprine in active chronic hepatitis. *Lancet*. 1973;1(7806):735-7.

-
35. Trivedi PJ, Hirschfield GM. Treatment of autoimmune liver disease: current and future therapeutic options. *Ther Adv Chronic Dis.* 2013; 4(3):119-41.
 36. Reuther LO, Sonne J, Larsen NE, Larsen B, Christensen S, Rasmussen SN, et al. Pharmacological monitoring of azathioprine therapy. *Scand J Gastroenterol.* 2003;38(9):972-7.
 37. Johnson PJ, McFarlane IG, Williams R. Azathioprine for long-term maintenance of remission in autoimmune hepatitis. *N Engl J Med.* 1995;333(15):958-63.
 38. Mucenic M, De Mello ES, Cançado ELR. Chloroquine for the maintenance of remission of autoimmune hepatitis: Results of a pilot study. *Arq Gastroenterol.* 2005;42(4):249-55.
 39. Czaja AJ. Drug choices in autoimmune hepatitis: part B--Nonsteroids. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2012;6(5):617-35.
 40. Czaja AJ. Advances in the current treatment of autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci.* 2012;57(8):1996-2010.
 41. Than NN, Wiegard C, Weiler-Normann C, Füssel K, Mann J, Hodson J, et al. Long-term follow-up of patients with difficult to treat type 1 autoimmune hepatitis on Tacrolimus therapy. *Scand J Gastroenterol.* 2016;51(3):329-36.
 42. Czaja AJ, Lindor KD. Failure of budesonide in a pilot study of treatment-dependent autoimmune hepatitis. *Gastroenterology.* 2000;119(5):1312-6.
 43. Danielsson A, Prytz H. Oral budesonide for treatment of autoimmune chronic active hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 1994;8(6):585-90.

-
44. Wiegand J, Schöler A, Kanzler S, Lohse A, Beuers U, Kreisel W, et al. Budesonide in previously untreated autoimmune hepatitis. *Liver Int.* 2005;25(5):927-34.
 45. Manns MP, Woynarowski M, Kreisel W, Lurie Y, Rust C, Zuckerman E, et al. Budesonide induces remission more effectively than prednisone in a controlled trial of patients with autoimmune hepatitis. *Gastroenterology.* 2010;139(4):1198-206.
 46. Richardson PD, James PD, Ryder SD. Mycophenolate mofetil for maintenance of remission in autoimmune hepatitis in patients resistant to or intolerant of azathioprine. *J Hepatol.* 2000;33(3):371-5.
 47. Devlin SM, Swain MG, Urbanski SJ, Burak KW. Mycophenolate mofetil for the treatment of autoimmune hepatitis in patients refractory to standard therapy. *Can J Gastroenterol.* 2004;18(5):321-6.
 48. Czaja AJ, Carpenter HA. Empiric therapy of autoimmune hepatitis with mycophenolate mofetil: comparison with conventional treatment for refractory disease. *J Clin Gastroenterol.* 2005;39(9):819-25.
 49. Inductivo-Yu I, Adams A, Gish RG, Wakil A, Bzowej NH, Frederick RT, et al. Mycophenolate mofetil in autoimmune hepatitis patients not responsive or intolerant to standard immunosuppressive therapy. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2007;5(7):799-802.
 50. Baven-Pronk AMC, Coenraad MJ, van Buuren HR, de Man RA, van Erpecum KJ, Lamers MMH, et al. The role of mycophenolate mofetil in the management of autoimmune hepatitis and overlap syndromes. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011;34(3):335-43.

51. Aw MM, Dhawan A, Samyn M, Bargiota A, Mieli-Vergani G. Mycophenolate mofetil as rescue treatment for autoimmune liver disease in children: a 5-year follow-up. *J Hepatol*. 2009;51(1):156-60.
52. Jothimani D, Cramp ME, Cross TJS. Role of mycophenolate mofetil for the treatment of autoimmune hepatitis-an observational study. *J Clin Exp Hepatol*. 2014;4(3):221-5.
53. Zachou K, Gatselis NK, Arvaniti P, Gabeta S, Rigopoulou EI, Koukoulis GK, et al. A real-world study focused on the long-term efficacy of mycophenolate mofetil as first-line treatment of autoimmune hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016;43(10):1035-47.
54. Kahan BD, Wood AJJ, Kahan BD. Cyclosporine. *N Engl J Med*. 1989; 321(25):1725-38.
55. Fruman DA, Klee CB, Bierer BE, Burakoff SJ. Calcineurin phosphatase activity in T lymphocytes is inhibited by FK 506 and cyclosporin A. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89(9):3686-90.
56. Thomson AW, Bonham CA, Zeevi A. Mode of action of tacrolimus (FK506): molecular and cellular mechanisms. *Ther Drug Monit*. 1995; 17(6):584-91.
57. Spencer CM, Goa KL, Gillis JC. Tacrolimus. An update of its pharmacology and clinical efficacy in the management of organ transplantation. *Drugs*. 1997;54(6):925-75.
58. Aqel BA, Machicao V, Rosser B, Satyanarayana R, Harnois DM, Dickson RC. Efficacy of tacrolimus in the treatment of steroid refractory autoimmune hepatitis. *J Clin Gastroenterol*. 2004;38(9):805-9.

-
59. Sciveres M, Caprai S, Palla G, Ughi C, Maggiore G. Effectiveness and safety of ciclosporin as therapy for autoimmune diseases of the liver in children and adolescents. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004;19(2):209-17.
 60. Alvarez F, Ciocca M, Cañero-Velasco C, Ramonet M, de Davila MT, Cuarterolo M, et al. Short-term cyclosporine induces a remission of autoimmune hepatitis in children. *J Hepatol.* 1999;30(2):222-7.
 61. Cuarterolo M, Ciocca M, Velasco CC, Ramonet M, González T, López S, et al. Follow-up of children with autoimmune hepatitis treated with cyclosporine. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2006;43(5):635-9.
 62. Casal Moura M, Liberal R, Cardoso H, Horta E Vale AM, Macedo G. Management of autoimmune hepatitis: Focus on pharmacologic treatments beyond corticosteroids. *World J Hepatol.* 2014;6(6):410-8.
 63. Czaja AJ. Autoimmune hepatitis: focusing on treatments other than steroids. *Can J Gastroenterol.* 2012;26(9):615-20.
 64. Larsen FS, Vainer B, Eefsen M, Bjerring PN, Adel Hansen B. Low-dose tacrolimus ameliorates liver inflammation and fibrosis in steroid refractory autoimmune hepatitis. *World J Gastroenterol.* 2007;13(23):3232-6.
 65. Tannous MM, Cheng J, Muniyappa K, Farooq I, Bharara A, Kappus M, et al. Use of tacrolimus in the treatment of autoimmune hepatitis: a single centre experience. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011;34(3):405-7.
 66. Van Thiel DH, Wright H, Carroll P, Abu-Elmagd K, Rodriguez-Rilo H, McMichael J, et al. Tacrolimus: a potential new treatment for autoimmune chronic active hepatitis: results of an open-label preliminary trial. *Am J Gastroenterol.* 1995;90(5):771-6.

-
67. Rubin JN, Te HS. Refractory autoimmune hepatitis: beyond standard therapy. *Dig Dis Sci*. 2016;61(6):1757-62.
 68. Lammert C, Loy VM, Oshima K, Gawrieh S. Management of difficult cases of autoimmune hepatitis. *Curr Gastroenterol Rep*. 2016;18(2):1-9.
 69. Chan S. Targeting the mammalian Target of Rapamycin (mTOR): a new approach to treating cancer. *Br J Cancer*. 2004;91(8):1420-4.
 70. Chatrath H, Allen L, Boyer TD. Use of sirolimus in the treatment of refractory autoimmune hepatitis. *Am J Med*. 2014;127(11):1128-31.
 71. Ytting H, Larsen FS. Everolimus treatment for patients with autoimmune hepatitis and poor response to standard therapy and drug alternatives in use. *Scand J Gastroenterol*. 2015;50(8):1025-31.
 72. Nakamura K, Yoneda M, Yokohama S, Tamori K, Sato Y, Aso K, et al. Efficacy of ursodeoxycholic acid in Japanese patients with type 1 autoimmune hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol*. 1998;13(5):490-5.
 73. Czaja AJ, Carpenter HA, Lindor KD. Ursodeoxycholic acid as adjunctive therapy for problematic type 1 autoimmune hepatitis: a randomized placebo-controlled treatment trial. *Hepatology*. 1999;30(6):1381-6.
 74. Carey EJ, Somaratne K, Rakela J. Successful rituximab therapy in refractory autoimmune hepatitis and Evans syndrome. *Rev Médica Chile*. 2011;139(11):1484-7.
 75. Santos ES, Arosemena LR, Raez LE, O'Brien C, Regev A. Successful treatment of autoimmune hepatitis and idiopathic thrombocytopenic purpura with the monoclonal antibody, rituximab: case report and review of literature. *Liver Int*. 2006;26(5):625-9.

76. Burak KW, Swain MG, Santodomingo-Garzon T, Santodomino-Garzon T, Lee SS, Urbanski SJ, et al. Rituximab for the treatment of patients with autoimmune hepatitis who are refractory or intolerant to standard therapy. *Can J Gastroenterol*. 2013;27(5):273-80.
77. Weiler-Normann C, Schramm C, Quaas A, Wiegard C, Glaubke C, Pannicke N, et al. Infliximab as a rescue treatment in difficult-to-treat autoimmune hepatitis. *J Hepatol*. 2013;58(3):529-34.
78. Tobon GJ, Cañas C, Jaller J-J, Restrepo J-C, Anaya J-M. Serious liver disease induced by infliximab. *Clin Rheumatol*. 2007;26(4):578-81.
79. Burak KW, Urbanski SJ, Swain MG. Successful treatment of refractory type 1 autoimmune hepatitis with methotrexate. *J Hepatol*. 1998;29(6):990-3.
80. Kanzler S, Gerken G, Dienes HP, Meyer zum Büschenfelde KH, Lohse AW. Cyclophosphamide as alternative immunosuppressive therapy for autoimmune hepatitis--report of three cases. *Zeitschrift für Gastroenterol*. 1997;35(7):571-8.
81. Czaja AJ. Emerging opportunities for site-specific molecular and cellular interventions in autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci*. 2010;55(10):2712-26.
82. Dhirapong A, Yang G-X, Nadler S, Zhang W, Tsuneyama K, Leung P, et al. Therapeutic effect of cytotoxic T lymphocyte antigen 4/immunoglobulin on a murine model of primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2013;57(2):708-15.

-
83. Rainsford KD, Parke AL, Clifford-Rashotte M, Kean WF. Therapy and pharmacological properties of hydroxychloroquine and chloroquine in treatment of systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and related diseases. *Inflammopharmacology*. 2015;23(5): 231-69.
 84. Cooper RG, Magwere T. Chloroquine: novel uses & manifestations. *Indian J Med Res*. 2008;127(4):305-16.
 85. Ruiz-Irastorza G, Khamashta MA. Hydroxychloroquine: the cornerstone of lupus therapy. *Lupus*. 2008;17(4):271-3.
 86. Solomon VR, Lee H. Chloroquine and its analogs: A new promise of an old drug for effective and safe cancer therapies. *Eur J Pharmacol*. Elsevier B.V.; 2009;625(1-3):220-33.
 87. Cervera R, Khamashta MA, Hughes GR V. The Euro-lupus project: epidemiology of systemic lupus erythematosus in Europe. *Lupus*. 2009; 18(10):869-74.
 88. Shinjo SK, Bonfá E, Wojdyla D, Borba EF, Ramirez LA, Scherbarth HR, et al. Antimalarial treatment may have a time-dependent effect on lupus survival: Data from a multinational Latin American inception cohort. *Arthritis Rheum*. 2010;62(3):855-62.
 89. Ruiz-Irastorza G, Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Khamashta MA. Clinical efficacy and side effects of antimalarials in systemic lupus erythematosus: a systematic review. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(1):20-8.
 90. Avina-Zubieta J, Galindo-Rodriguez G, Newman S, Suarez-Almazor M, Russell A. Long term effectiveness of antimalarial drugs in rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis*. 1998;57:582-7.

91. Feely MG, O'Dell JR. Update on the use of conventional disease-modifying antirheumatic drugs in the management of rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2010;22(3):316-20.
92. Moreland LW, Russell AS, Paulus HE. Management of rheumatoid arthritis: the historical context. *J Rheumatol*. 2001;28(6):1431-52.
93. Rahim R, Strobl JS. Hydroxychloroquine, chloroquine, and all-trans retinoic acid regulate growth, survival, and histone acetylation in breast cancer cells. *Anticancer Drugs*. 2009;20(8):736-45.
94. Al-Bari MA. Chloroquine analogues in drug discovery: new directions of uses, mechanisms of actions and toxic manifestations from malaria to multifarious diseases. *J Antimicrob Chemother*. 2015;70(6):1608-21.
95. Fox RI. Mechanism of action of hydroxychloroquine as an antirheumatic drug. *Semin Arthritis Rheum*. 1993;23(2):82-91.
96. Wallace DJ, Gudsoorkar VS, Weisman MH, Venuturupalli SR. New insights into mechanisms of therapeutic effects of antimalarial agents in SLE. *Nat Rev Rheumatol*. 2012;8(9):522-33.
97. Sperber K, Quraishi H, Kalb TH, Panja A, Stecher V, Mayer L. Selective regulation of cytokine secretion by hydroxychloroquine: inhibition of interleukin 1 alpha (IL-1-alpha) and IL-6 in human monocytes and T cells. *J Rheumatol*. 1993;20(5):803-8.
98. Picot S, Peyron F, Vuillez JP, Polack B, Ambroise-Thomas P. Chloroquine inhibits tumor necrosis factor production by human macrophages in vitro. *J Infect Dis*. 1993;164(4):830.

-
99. Silva JC Da, Mariz HA, Rocha LF Da, Oliveira PSS De, Dantas AT, Duarte ALBP, et al. Hydroxychloroquine decreases Th17-related cytokines in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis patients. *Clinics (Sao Paulo)*. 2013;68(6):766-71.
 100. Gracia-Sancho J, Guixé-Muntet S, Hide D, Bosch J. Modulation of autophagy for the treatment of liver diseases. *Expert Opin Investig Drugs*. 2014;23(7):965-77.
 101. Giancchetti E, Delfino DV, Fierabracci A. Recent insights on the putative role of autophagy in autoimmune diseases. *Autoimmun Rev*. 2014;13(3):231-41.
 102. Soria A, Barbaud A, Assier H, Avenel-Audran M, Tétart F, Raison-Peyron N, et al. Cutaneous adverse drug reactions with antimalarials and allergological skin tests. *Dermatology*. 2015;231(4):353-9.
 103. Peponis V, Kyttaris V, Chalkiadakis S, Bonovas S, Sitaras N. Review: Ocular side effects of anti-rheumatic medications: what a rheumatologist should know. *Lupus*. 2010;19(6):675-82.
 104. Marmor MF, Kellner U, Lai TYY, Melles RB, Mieler WF. Recommendations on screening for chloroquine and hydroxychloroquine retinopathy (2016 Revision). *Ophthalmology*. 2016;123(6):1386-94.
 105. Munster T, Gibbs JP, Shen D, Baethge BA, Botstein GR, Caldwell J, et al. Hydroxychloroquine concentration-response relationships in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2002;46(6):1460-9.
 106. Stein M, Bell MJ, Ang LC. Hydroxychloroquine neuromyotoxicity. *J Rheumatol*. 2000;27(12):2927-31.

-
107. Fan H, Ma Z, Chen J, Yang X, Cheng J, Li Y. Pharmacokinetics and bioequivalence study of hydroxychloroquine sulfate tablets in Chinese healthy volunteers by LC–MS/MS. *Rheumatol Ther*. 2015;2(2):183-95.
 108. Mucenic M. Estudo da cloroquina na indução e na manutenção de remissão da hepatite auto-imune após tratamento inicial com prednisona e azatioprina [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2003.
 109. Gayotto LCC. Visão histórica e consenso nacional sobre a classificação das hepatites crônicas. *GED*. 2000;19:137-40.
 110. Basnuevo JG, Gutierrez-Estarli E. Seven cases of hepatitis treated with chloroquine (tanakan). *Rev Kuba Med Trop y Parasitol*. 1950;6(3-4):45-54.
 111. Kouroumalis EA, Koskinas J. Treatment of chronic active hepatitis B with chloroquine: a preliminary report. *Ann Acad Med Singapore*. 1986;15(2):149-52.
 112. Helbling B, Reichen J. Reactivation of hepatitis B following withdrawal of chloroquine. *Schweiz Med Wochenschr*. 1994;124(18):759-62.
 113. Offensperger WB, Offensperger S, Walter E, Blum HE, Gerok W. Inhibition of duck hepatitis B virus infection by lysosomotropic agents. *Virology*. 1991;183(1):415-8.
 114. Peymani P, Yeganeh B, Sabour S, Geramizadeh B, Fattahi MR, Keyvani H, et al. New use of an old drug: chloroquine reduces viral and ALT levels in HCV non-responders (a randomized, triple-blind, placebo-controlled pilot trial). *Can J Physiol Pharmacol*. 2016;94(6):613-9.

115. Baeres M, Herkel J, Czaja AJ, Wies I, Kanzler S, Cancado ELR, et al. Establishment of standardised SLA/LP immunoassays: specificity for autoimmune hepatitis, worldwide occurrence, and clinical characteristics. *Gut*. 2002;51(2):259-64.
116. Czaja AJ, Shums Z, Norman GL. Frequency and significance of antibodies to soluble liver antigen/liver pancreas in variant autoimmune hepatitis. *Autoimmunity*. 2002;35(8):475-83.
117. Lamers MMH, van Oijen MGH, Pronk M, Drenth JPH. Treatment options for autoimmune hepatitis: a systematic review of randomized controlled trials. *J Hepatol*. 2010;53(1):191-8.
118. Czaja AJ, Freese DK, American Association for the Study of Liver Disease. Diagnosis and treatment of autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2002;36(2):479-97.
119. Hübener S, Oo YH, Than NN, Hübener P, Weiler-Normann C, Lohse AW, et al. Efficacy of 6-Mercaptopurine as second-line treatment for patients with autoimmune hepatitis and azathioprine intolerance. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015;14(3):445-53.
120. Kirstein MM, Metzler F, Geiger E, Heinrich E, Hallensleben M, Manns MP, et al. Prediction of short- and long-term outcome in patients with autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2015;62(5):1524-35.
121. Montano-Loza AJ, Carpenter HA, Czaja AJ. Consequences of treatment withdrawal in type 1 autoimmune hepatitis. *Liver Int*. 2007; 27(4):507-15.
122. Costedoat-Chalumeau N, Dunogué B, Morel N, Le Guern V, Guettrot-Imbert G. Hydroxychloroquine: A multifaceted treatment in lupus. *Press Medicale*. 2014;43(6Pt 2):e167-80.

123. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD, et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. *Arthritis Care Res.* 2012;64(6):797-808.
124. Tunnicliffe DJ, Singh-Grewal D, Kim S, Craig JC, Tong A. Diagnosis, monitoring, and treatment of systemic lupus erythematosus: a systematic review of clinical practice guidelines. *Arthritis Care Res.* 2015;67(10):1440-52.
125. Van Vollenhoven RF, Mosca M, Bertsias G, Isenberg D, Kuhn A, Lerstrøm K, et al. Treat-to-target in systemic lupus erythematosus: recommendations from an international task force. *Ann Rheum Dis.* 2014;73:958-67.
126. Olsen NJ, Schleich MA, Karp DR. Multifaceted effects of hydroxychloroquine in human disease. *Semin Arthritis Rheum.* 2013; 43(2):264-72.
127. Cusnir I, Dobing S, Jones N, Russell A. Antimalarial drugs alone may still have a role in rheumatoid arthritis. *JCR J Clin Rheumatol.* 2015; 21(4):193-5.
128. Singh JA, Saag KG, Louis Bridges SJ, Akl EA, Bannuru RR, Sullivan MC, et al. 2015 American College of Rheumatology Guideline for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Care Res.* 2016; 68(5):723-4.
129. Tam LS, Gladman DD, Hallett DC, Rahman P, Urowitz MB. Effect of antimalarial agents on the fasting lipid profile in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2000;27(9):2142-5.

-
130. Hage MP, Al-Badri MR, Azar ST. A favorable effect of hydroxychloroquine on glucose and lipid metabolism beyond its anti-inflammatory role. *Ther Adv Endocrinol Metab.* 2014;5(4):77-85.
131. Blazar BR, Whitley CB, Kitabchi AE, Tsai MY, Santiago J, White N, et al. In vivo chloroquine-induced inhibition of insulin degradation in a diabetic patient with severe insulin resistance. *Diabetes.* 1984;33(12):1133-7.
132. Gerstein HC, Thorpe KE, Taylor DW, Haynes RB, Group UPDS (UKPDS), Malmberg K, et al. The effectiveness of hydroxychloroquine in patients with type 2 diabetes mellitus who are refractory to sulfonylureas--a randomized trial. *Diabetes Res Clin Pract.* 2002;55(3):209-19.
133. Rekedal LR, Massarotti E, Garg R, Bhatia R, Gleeson T, Lu B, et al. Changes in glycosylated hemoglobin after initiation of hydroxychloroquine or methotrexate treatment in diabetes patients with rheumatic diseases. *Arthritis Rheum.* 2010;62(12):3569-73.
134. Bili A, Sartorius JA, Kirchner HL, Morris SJ, Ledwich LJ, Antohe JL, et al. Hydroxychloroquine use and decreased risk of diabetes in rheumatoid arthritis patients. *J Clin Rheumatol.* 2011;17(3):115-20.
135. Bellomio V, Spindler A, Lucero E, Berman A, Sueldo R, Berman H, et al. Metabolic syndrome in Argentinean patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2009;18(11):1019-25.
136. Kavanaugh A, Adams-Huet B, Jain R, Denke M, McFarlin J. Hydroxychloroquine Effects on Lipoprotein Profiles (the HELP trial): A double-blind, randomized, placebo-controlled, pilot study in patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Rheumatol.* 1997;3(1):3-8.

-
137. Wallace DJ, Metzger AL, Stecher VJ, Turnbull BA, Kern PA, Carter A, et al. Cholesterol-lowering effect of hydroxychloroquine in patients with rheumatic disease: Reversal of deleterious effects of steroids on lipids. *Am J Med.* 1990;89(3):322-6.
138. Hodis HN, Quismorio FP, Wickham E, Blankenhorn DH. The lipid, lipoprotein, and apolipoprotein effects of hydroxychloroquine in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 1993;20(4):661-5.
139. Rahman P, Gladman DD, Urowitz MB, Yuen K, Hallett D, Bruce IN. The cholesterol lowering effect of antimalarial drugs is enhanced in patients with lupus taking corticosteroid drugs. *J Rheumatol.* 1999;26(2):325-30.
140. Borba EF, Bonfá E. Longterm beneficial effect of chloroquine diphosphate on lipoprotein profile in lupus patients with and without steroid therapy. *J Rheumatol.* 2001;28(4):780-5.
141. Morris SJ, Wasko MCM, Antohe JL, Sartorius JA, Kirchner HL, Dancea S, et al. Hydroxychloroquine use associated with improvement in lipid profiles in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Care Res.* 2011;63(4):530-4.
142. Munro R, Morrison E, McDonald AG, Hunter JA, Madhok R, Capell HA. Effect of disease modifying agents on the lipid profiles of patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 1997;56(6):374-7.
143. Shroyer NF, Lewis RA, Lupski JR, Levy G., Munz S., Paschal J, et al. Analysis of the ABCR (ABCA4) gene in 4-aminoquinoline retinopathy: is retinal toxicity by chloroquine and hydroxychloroquine related to Stargardt disease? *Am J Ophthalmol.* 2001;131(6):761-6.

144. Grassmann F, Bergholz R, Mändl J, Jägle H, Ruether K, Weber BHF. Common synonymous variants in ABCA4 are protective for chloroquine induced maculopathy (toxic maculopathy). *BMC Ophthalmol.* 2015; 15:18.
145. Carmichael SJ, Day RO, Tett SE. A cross-sectional study of hydroxychloroquine concentrations and effects in people with systemic lupus erythematosus. *Intern Med J.* 2013;43(5):547-53.
146. Palma Sánchez D, Rubio Velazquez E, Soro Marín S, Reyes García R. Retinal toxicity due to antimalarials: Frequency and risk factors. *Reumatol Clin.* 2013;9(5):259-62.
147. Ashfaq UA, Javed T, Rehman S, Nawaz Z, Riazuddin S. Lysosomotropic agents as HCV entry inhibitors. *Virology J.* 2011;8:163.
148. Mizui T, Yamashina S, Tanida I, Takei Y, Ueno T, Sakamoto N, et al. Inhibition of hepatitis C virus replication by chloroquine targeting virus-associated autophagy. *J Gastroenterol.* 2010;45(2):195-203.
149. Shichiri M, Kono N, Shimanaka Y, Tanito M, Rotzoll DE, Yoshida Y, et al. A novel role for α -Tocopherol Transfer Protein (α -TTP) in protecting against chloroquine toxicity. *J Biol Chem.* 2012;287(4):2926-34.