



# **Terapia combinada: impacto en la historia natural de la hepatitis crónica C**

**Fdo:** Maria Isabel Carmona Soria

Manuel Rodríguez Téllez

Juan Manuel Herrerías Gutiérrez

Directores de la tesis

**Fdo:** Patricia Cordero Ruiz

Doctorando

Marzo 2014

**TESIS DOCTORAL**

Patricia Cordero Ruiz



**Universidad de Sevilla**  
**Facultad de Medicina**  
**Departamento de Medicina**

Doña Maria Isabel Carmona Soria

Don Manuel Rodríguez Téllez

Don Juan Manuel Herrerías Gutiérrez

**CERTIFICAN:**

Que el trabajo de investigación que presenta Doña Patricia Cordero Ruiz titulado “TERAPIA COMBINADA: IMPACTO EN LA HISTORIA NATURAL DE LA HEPATITIS CRÓNICA C” ha sido realizado bajo su dirección y consideran que reúne el contenido y rigor científico necesario para ser leído y defendido como Tesis para optar al grado de Doctor en Medicina.

Y para que así conste y a los efectos oportunos, expiden y firman la presente certificación en Sevilla a 1 de Marzo del 2014:

Fdo: M<sup>a</sup> Isabel Carmona Soria

Fdo: Manuel Rodríguez Téllez

Fdo: Juan Manuel Herrerías Gutiérrez



A mis padres,  
María Jesús y José Antonio



## **Agradecimientos**

En primer lugar me gustaría dar las gracias a mis directores de tesis, por su apoyo, especialmente a la doctora Isabel Carmona Soria, por ofrecerme la posibilidad de realizar este trabajo, por la orientación y supervisión constante del mismo, pero sobre todo por su confianza y su apoyo a lo largo de estos años.

A todos los que de alguna manera han contribuido a que este trabajo se lleve a cabo: Ángel, Juanjo, a mis compañeros (Belén y Javier), administrativos y personal de enfermería.

A mi familia por su comprensión, paciencia y ánimo constante durante toda mi formación.

A Julio, que me ha aguantado con paciencia y me ha brindado todo su apoyo y cariño.

A todos mis amigos, porque sin ellos no hubiera sido lo mismo.

A todos ellos, muchas gracias.



## RESUMEN:

Terapia combinada: impacto en la historia natural de la hepatitis crónica C.

Patricia Cordero Ruiz

La hepatitis crónica por virus C es muy prevalente y supone la principal causa de hepatitis crónica, desarrollo de cirrosis, enfermedad hepática en fase terminal, carcinoma hepatocelular y trasplante hepático en países desarrollados. El tratamiento antiviral erradica la infección por virus C en un porcentaje variable de pacientes dependiendo de distintos factores. La eliminación del agente etiológico de la hepatopatía modifica el pronóstico de la misma, evitando la progresión de la enfermedad y aparición de complicaciones. Sin embargo, los pacientes que no responden al tratamiento presentarán evolución de la lesión hepática y probablemente desarrollo de complicaciones de la misma. Estos cambios conllevan años e incluso décadas y los estudios publicados hasta el momento actual se limitan a periodos de seguimiento relativamente cortos (nunca superiores a 10 años). La biopsia hepática es la técnica de referencia para objetivar los cambios en la lesión hepática, no obstante se trata de un procedimiento invasivo asociado a cierto grado de morbimortalidad. Por ellos la evaluación histológica a largo plazo es limitada. La aparición de la elastografía transitoria, método no invasivo para evaluar la fibrosis hepática, nos permite seguir y analizar a largo plazo la lesión hepática de pacientes que reciben tratamiento antiviral, aunque hasta el momento son escasos los datos disponibles y se limitan a seguimientos a corto plazo con un escaso número de pacientes. El objetivo de nuestro estudio es evaluar la influencia que la respuesta al tratamiento combinado, con interferón y ribavirina, tiene sobre la evolución clínica de la hepatopatía por virus C (desarrollo de cirrosis hepática, hipertensión portal y sus complicaciones, carcinoma hepatocelular y mortalidad). La utilización de un método diagnóstico no invasivo, la elastografía hepática transitoria, para evaluar la progresión de la fibrosis hepática a largo plazo. Determinar la durabilidad de la respuesta virológica sostenida así como el mantenimiento de los anticuerpos anti virus C.

## ÍNDICE:

<b>1. INTRODUCCIÓN:</b> .....	<b>1</b>
1.1. El virus de la hepatitis C .....	1
1.2. Epidemiología:.....	3
1.3. Mecanismos de transmisión.....	6
1.4. Diagnóstico.....	9
1.4.1. Métodos serológicos: .....	9
1.4.2. Detección del RNA-VHC circulante .....	9
1.4.3. Métodos diagnósticos de la fibrosis hepática .....	9
1.4.3.1. Histológico.....	10
1.4.3.2. Métodos no invasivos de evaluación de la fibrosis.....	12
1.4.3.2.1. Marcadores serológicos .....	12
1.4.3.2.2. Métodos físicos y de imagen.....	16
1.4.3.2.3. Elastografía transitoria (ET).....	18
1.5. Clínica e historia natural .....	23
1.5.1. Infección aguda.....	23
1.5.2. Infección crónica.....	24
1.5.2.1. Factores asociados a la progresión de la hepatitis C crónica (HCC) .....	25
1.5.2.1.1. Factores dependiente del huésped.....	25
1.5.2.1.2. Factores dependientes del virus .....	29
1.5.3. Evolución de la enfermedad .....	29

1.6.	Tratamiento.....	30
1.7.	Impacto del tratamiento en la historia natural de la enfermedad. ....	34
1.7.1.	Erradicación del virus de la hepatitis C: .....	34
1.7.2.	Durabilidad de la respuesta virológica sostenida: .....	36
1.7.3.	Consecuencias clínicas de la Respuesta Virológica Sostenida: .....	37
1.7.3.1.	Bioquímica:.....	38
1.7.3.2.	Histología hepática: .....	38
1.7.3.3.	Eventos clínicos:.....	42
<b>JUSTIFICACIÓN: .....</b>		<b>47</b>
<b>OBJETIVOS:.....</b>		<b>49</b>
<b>PACIENTES Y MÉTODO: .....</b>		<b>51</b>
4.1.	Diseño del estudio: .....	51
4.2.	Población de pacientes: .....	51
4.3.	Criterios de elegibilidad: .....	51
4.3.1.	Criterios de inclusión de pacientes: .....	51
4.3.2.	Criterios de exclusión de pacientes: .....	51
4.3.3.	Comité ético y consentimiento informado: .....	52
4.4.	Estudio retrospectivo: .....	52
4.4.1.	Datos demográficos y epidemiológicos. ....	52
4.4.2.	Estudio de la infección por virus de la hepatitis C. ....	52
4.4.3.	Estudio histológico. ....	53
4.4.4.	Datos del tratamiento antiviral.....	53

4.4.5.	Seguimiento clínico de los pacientes.....	53
4.4.5.1.	Evolución clínica: .....	53
4.4.5.2.	Datos analíticos: .....	54
4.4.5.3.	Ecografía abdomen: .....	54
4.4.5.4.	Endoscopia digestiva alta: .....	54
4.5.	Estudio prospectivo: .....	55
4.5.1.	Valoración clínica.....	55
4.5.2.	Valoración analítica.....	55
4.5.3.	Valoración no invasiva de la fibrosis mediante elastografía transitoria.....	55
4.6.	Métodos analíticos.....	55
4.6.1.	Determinación de anticuerpos anti-VHC: .....	55
4.6.2.	Niveles de RNA-VHC séricos .....	56
4.7.	Elastografía transitoria .....	56
4.8.	Comparación entre no respondedores y aquellos con respuesta virológica sostenida	57
4.9.	Análisis estadístico .....	57
4.9.1.	Análisis exploratorio de datos:.....	57
4.9.2.	Análisis descriptivo. ....	57
4.9.3.	Análisis Inferencial.....	58
4.9.4.	Análisis de supervivencias. ....	59
4.9.5.	Test Log-Rank. ....	60
4.9.6.	Regresión de Cox. ....	60
	<b>RESULTADOS: .....</b>	<b>61</b>

5.1.	Estudio retrospectivo .....	62
5.1.1.	Datos demográficos y epidemiológicos: .....	62
5.1.2.	Datos virológicos: .....	63
5.1.3.	Histología: .....	63
5.1.4.	Tratamiento antiviral previo: .....	64
5.1.5.	Tratamiento antiviral actual: .....	64
5.1.6.	Evaluación clínica: .....	65
5.2.	Estudio prospectivo: .....	68
5.2.1.	Valoración analítica: .....	68
5.2.2.	Valoración de la fibrosis mediante elastografía transitoria: .....	69
5.2.3.	Comparación entre no respondedores frente a respondedores: .....	71
5.2.3.1.	Características basales: .....	71
5.2.3.2.	Características de tratamiento: .....	72
5.2.3.3.	Datos analíticos: .....	73
5.2.3.4.	Evolución de la enfermedad hepática: .....	75
5.3.	Asociación entre factores de riesgo y complicaciones: .....	82
5.3.1.	Descompensación de la enfermedad hepática: .....	82
5.3.2.	Hepatocarcinoma: .....	84
5.3.3.	Mortalidad global: .....	86
5.3.4.	Mortalidad de causa hepática y trasplante hepático: .....	88
5.3.5.	Mortalidad de causa no hepática: .....	90
	<b>DISCUSIÓN: .....</b>	<b>93</b>

<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>111</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>112</b>



## ÍNDICE DE TABLAS:

Tabla 1: Durabilidad del RNA-VHC indetectable tras la respuesta virológica sostenida. ....	37
Tabla 2: Cambios en la fibrosis hepática en pacientes con hepatitis crónica C y respuesta virológica sostenida. ....	40
Tabla 3: Regresión de la cirrosis hepática (mediante biopsia hepática) en pacientes con respuesta virológica sostenida. ....	42
Tabla 4: Resultados clínicos en pacientes cirróticos según la respuesta al tratamiento. ....	44
Tabla 5: Variables cuantitativas basales y de tratamiento. ....	63
Tabla 6: Variables cualitativas basales. ....	64
Tabla 7: Variables cualitativas de tratamiento. ....	65
Tabla 8: Variables cualitativas de evolución de la enfermedad. ....	67
Tabla 9: Tiempo de seguimiento y tiempo hasta la aparición de complicaciones. ....	68
Tabla 10: Variables cualitativas de fibrosis hepática a largo plazo. ....	69
Tabla 11: Evolución de la fibrosis desde la biopsia inicial hasta la elastografía al final del seguimiento. ....	70
Tabla 12: Variables cuantitativas basales en no respondedores y respondedores al tratamiento. ....	72
Tabla 13: Variables cualitativas basales, de tratamiento y analíticas en no respondedores y respondedores al tratamiento. ....	74
Tabla 14: Variables cualitativas de evolución y complicaciones entre no respondedores y respondedores al tratamiento. ....	76
Tabla 15: Fibrosis a largo plazo mediante elastografía en el grupo no respondedor y respondedor al tratamiento. ....	77
Tabla 16: Evolución de la fibrosis comparando la biopsia inicial y la elastografía entre no respondedores y respondedores al tratamiento. ....	81
Tabla 17: Análisis univariante de la descompensación de la enfermedad hepática: ....	83
Tabla 18: Modelo multivariado de la descompensación de la enfermedad hepática: ....	84
Tabla 19: Análisis univariante desarrollo de hepatocarcinoma: ....	85

Tabla 20: Modelo multivariado de desarrollo de hepatocarcinoma: .....	86
Tabla 21: Análisis univariante de la mortalidad global. ....	87
Tabla 22: Modelo multivariado de mortalidad global: .....	88
Tabla 23: Análisis univariante de la mortalidad de causa hepática y trasplante hepático: .....	89
Tabla 24: Modelo multivariado de mortalidad de causa hepática y trasplante hepático: .....	90
Tabla 25: Análisis univariante de la mortalidad de causa no hepática: .....	91

## ÍNDICE FIGURAS:

Figura 1: Estructura genómica del virus de la hepatitis C. ....	2
Figura 2: Seroprevalencia de la infección por virus de la hepatitis C en el mundo. ....	5
Figura 3: Características técnicas del Fibroscan. ....	19
Figura 4: Diagrama de sujetos incluidos en el estudio .....	62
Figura 5: Evolución de la fibrosis desde la biopsia inicial hasta la elastografía al final del seguimiento. ....	70
Figura 6: Representación de grupos de edad en función de la respuesta al tratamiento. ....	71
Figura 7: Complicaciones clínicas entre no respondedores y respondedores al tratamiento. ....	77
Figura 8: Curvas de supervivencia: (A) desarrollo de complicaciones, (B) hepatocarcinoma y (C) mortalidad de causa hepática en el tiempo de seguimiento. ....	78
Figura 9: Evolución de la fibrosis hepática a largo plazo entre respondedores y no respondedores al tratamiento. ....	82



## **ABREVIATURAS:**

VHC: virus de la hepatitis C.

RNA: ácido ribonucleico.

PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

UDVP: consumo/usuario de drogas por vía parenteral.

OMS: organización mundial de la salud.

HCC: hepatitis crónica C.

EIA: enzimoimmunoanálisis.

TMA: amplificación isotérmica mediada por transcripción.

RVS: respuesta virológica sostenida.

AST: aspartato amino transferasa.

ALT: alanina aminotransferasa.

GGT: gamma glutamil transferasa.

RNM: resonancia magnética nuclear.

kPa: kilopascales.

ET: elastografía hepática transitoria.

RIQ: rango intercuartílico.

IMC: índice de masa corporal.

AUROC: área bajo la curva Roc.

CHC: hepatocarcinoma.

NR: no respondedor.

HR: hazard ratio.

IFN: interferón.

RBV: ribavirina.

CMSP: células mononucleares de sangre periférica.

TIMP: inhibidores tisulares de metaloproteinasas de matriz.

IgG: inmunoglobulina G.

## **1. INTRODUCCIÓN:**

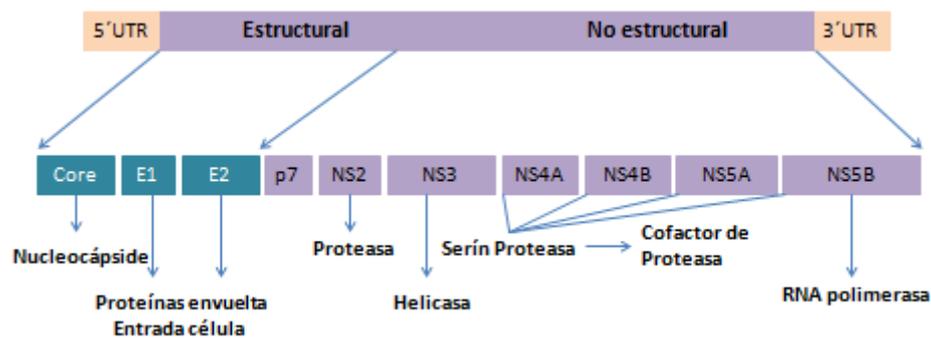
En los años 70, la elevada incidencia de hepatitis postransfusional (7-17%) hacía sospechar la existencia de un agente etiológico infeccioso transmitido por vía parenteral. Entre el 78-92% de los casos de estos cuadros postransfusionales no eran debidos a los agentes infecciosos conocidos, el virus de la hepatitis A y B. Por esto se denominaba hepatitis no A no B (1). Sin embargo la determinación del agente etiológico no fue posible hasta el año 1989, cuando Choo y cols aislaron el genoma del virus de la hepatitis C (VHC) en el plasma de un chimpancé (2). Posteriormente se desarrollaron métodos diagnósticos serológicos con anticuerpos anti-VHC. La realización de múltiples estudios epidemiológicos, permitió demostrar que se trataba de una infección muy prevalente, conocer las vías de transmisión principales y el comportamiento a largo plazo de la infección crónica por el VHC (3).

### **1.1. El virus de la hepatitis C**

Es un virus con una cadena de ácido ribonucleico (RNA) perteneciente a la familia Flaviviridae, que incluye tres géneros: pestivirus, flavivirus y hepacivirus. El VHC pertenece a este último grupo. Tiene una capacidad de replicación muy potente, estimándose una producción diaria de más de 10 trillones de partículas virales, incluso en fase de cronicidad de la infección. El virus se compone de una envoltura lipoproteica que recubre una nucleocápside formada por la proteína del core vírico y el genoma del virus en su interior. El genoma del VHC contiene alrededor de 9600 nucleótidos con un solo marco de lectura abierta (ORF, open Reading frame), que codifica una poliproteína de unos 3000 aminoácidos con regiones en los extremos 5' y 3' que no se traducen. Esta poliproteína es escindida por proteasas (de la célula y del propio virus) en proteínas estructurales [nucleocápside (C), envoltura (E1) y envoltura (E2)] y no estructurales (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B). Muchas de estas proteínas poseen actividades

enzimáticas esenciales para la replicación del VHC y el procesamiento de la poliproteína (figura 1).

Figura 1: Estructura genómica del virus de la hepatitis C.



Las proteínas E1 y E2, intervienen en la entrada y fusión viral a la membrana celular, siendo esenciales en las primeras fases de la infección por el VHC. En la región E2 se encuentra la región hipervariable 1 y 2, con elevadas tasas de mutación durante el proceso de infección del huésped (4). La nucleocápside se sintetiza en la región del core y participa en el ensamblaje, encapsulación y unión de las regiones E1 y E2.

Entre las proteínas no estructurales se encuentran p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B, que codifican proteínas claves en el ciclo vital del virus como son la helicasa, proteasa y polimerasa, que representan dianas para los tratamientos antivirales en desarrollo.

El extremo 5' constituido por 341 nucleótidos, contiene cuatro dominios que intervienen en la traducción del genoma del VHC y la replicación viral. Se utiliza en el desarrollo de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) diagnóstica.

El extremo 3' consta de dos regiones de 40 y 98 nucleótidos, interviene en el inicio de la replicación del VHC y en la unión con ciertas proteínas celulares (5).

Se han demostrado 6 genotipos diferentes del VHC y múltiples subtipos dentro del mismo genotipo, con una distribución geográfica diferente. Los genotipos 1, 2 y 3 se distribuyen por EEUU, Europa, Australia, Este Asiático (Japón, Taiwán, Tailandia y China), mientras que el resto de los genotipos tienen una representación geográfica más limitada. El genotipo 4 se distribuye por Oriente Medio, Egipto y África Central. Los genotipos 5 y 6 se localizan en África del Sur y el Sudeste Asiático. Además la distribución de los genotipos se asocia con el mecanismo de transmisión, los subtipos 1b y 2 se asocian con la transfusión sanguínea y los procedimientos médicos invasivos. El 1a, 3a y 4 con el consumo de drogas por vía parenteral (UDVP) (6, 7).

### **1.2. Epidemiología:**

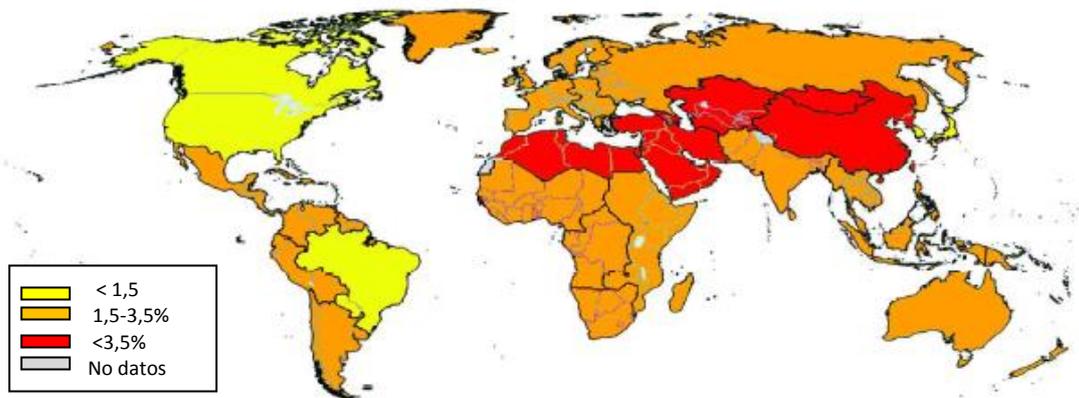
Determinar la incidencia de la hepatitis C es difícil debido a que la mayoría de las infecciones agudas son asintomáticas. Por otra parte, los test disponibles no diferencian infección aguda de crónica o resuelta, y casi ningún país dispone de sistemas de recogida de datos de casos de enfermedad aguda. Además incluso en países con sistemas de vigilancia bien establecidos subestiman la incidencia de la infección por VHC. Se han utilizado modelos matemáticos para inferir la tendencia en la incidencia, basándose en la suposición de que la prevalencia actual por edades refleja el riesgo acumulado de adquirir la infección (8). En Estados Unidos la incidencia del VHC fue establecida utilizando la edad de incidencia de los casos declarados de enfermedad aguda y utilizando la prevalencia por edades de un estudio transversal nacional. Este modelo mostró un gran aumento de la incidencia de infecciones por VHC desde finales de 1960 hasta los primeros años de los 80. La incidencia anual estimada antes de 1965 fue baja (18 por 100000), se mantuvo elevada durante 1989 (130 por 100000), con un promedio de 240000 infecciones por año en los años 80. Desde 1989 la incidencia

descendió más del 80%, según los datos de seroprevalencia nacional. Entre 1988 y 2002 estas cifras se mantuvieron estables (9).

Otra forma de estimar la incidencia de infección por VHC es mediante las cifras de seroconversión en cohortes seronegativas sometidas a seguimiento serológico a largo plazo. Estudios de cohortes en áreas hiperendémicas de Taiwán y Japón encontraron cifras de incidencia de 110/10000 y 28-36/10000 habitantes, respectivamente. La edad media de la infección fue de 50 años en Taiwán y 40 y 60 en las dos cohortes Japonesas (10). En Egipto, estudios de cohortes han mostrado una incidencia de 0.8/1000 habitantes-año en zonas del norte del país donde la prevalencia era del 9% y 6.8/1000 en el delta del Nilo donde la prevalencia era del 24%. El 67% de los infectados eran menores de 20 años (11). La organización mundial de la salud (OMS) estima una incidencia anual en Europa del 6.19/100000 habitantes; sin embargo, otros expertos estiman cifras alternativas y dada la dificultad para determinar la incidencia es difícil decidir que datos tienen mayor fiabilidad. Al igual que en Estados Unidos, la incidencia en algunos países europeos como son Italia y Francia aumentó durante los años 80 y descendió durante la década de los 90 (10, 12).

Se ha estimado una prevalencia global de 130-210 millones de personas infectadas de forma crónica por el VHC, lo que supone aproximadamente 2,2 - 3% de la población mundial. En la figura 2 podemos apreciar las diferencias en la prevalencia de la infección por VHC a nivel mundial. Esta estimación se basa en promedios ponderados de los datos aportados por las distintas regiones, aunque muchos países carecen de datos y los grupos poblacionales no son representativos de la población general (donantes de sangre, consumidores de drogas, individuos con relaciones sexuales de alto riesgo) (13).

Figura 2: Seroprevalencia de la infección por virus de la hepatitis C en el mundo.



La prevalencia varía dependiendo del área geográfica y de las poblaciones estudiadas (14). Así, en países como Estados Unidos, Australia, Turquía, España, Italia y Japón la prevalencia media de infección por VHC es (1,0-1,9%), pero los patrones de prevalencia por edad difieren en cada uno de ellos. En Estados Unidos, Australia y los países del norte y occidente de Europa la prevalencia es mayor entre personas de 30-49 años, lo que indica que la transmisión de la enfermedad ocurrió en los últimos 20-40 años y principalmente en adultos jóvenes. Sin embargo, la prevalencia por edad de la infección por VHC aumenta de forma continua con la edad en Turquía, España, Italia, Japón y China. En estos países, los mayores de 50 años representan la mayoría de las infecciones, lo que sugiere mayor riesgo de infección en el pasado lejano (40-60 años previos). La mayor prevalencia de infección por VHC se encuentra en Egipto, alcanzando hasta el 9%, en algunas zonas rurales esta cifra asciende hasta más del 50%, aumentando la prevalencia de la infección de forma constante con la edad. En todos los grupos de edad se detectaron altas tasas de infección. Esto indica un elevado riesgo de adquirir la enfermedad en el pasado que perdura hasta hoy (10, 15).

### 1.3. Mecanismos de transmisión

El VHC se transmite a través de las exposiciones directas a sangre (transfusión, trasplante de donantes infectados y el uso de drogas inyectables). Su transmisión es menos eficaz cuando se trata de una sola exposición percutánea a dosis pequeñas, por ejemplo pinchazos accidentales o por la exposición de mucosas a sangre o derivados de suero infectado (como el nacimiento de hijos de una madre infectada o relaciones sexuales con una pareja infectada).

- Transfusional: hasta la década de los 80 fue la vía de infección más frecuente en los países desarrollados. Entre el 2-10% de las unidades de sangre transmitían la hepatitis C, por lo que las personas que recibían transfusiones de hematíes o de algún factor de la coagulación de forma crónica se infectaron. Sin embargo tras la mejora del sistema de donaciones sanguíneas y la aparición de métodos diagnósticos del VHC, la transmisión asociada a transfusiones se redujo de forma drástica. Tras estas mejoras se estimaba un riesgo de adquirir la infección menor al 1/200000 unidades de sangre, que ocurría durante el periodo ventana de la infección. Pero este riesgo ha disminuido más aún, entre el 0,1 al 2,33 por millón de donación, tras la determinación del RNA del VHC. La transmisión suele ocurrir en donantes recién infectados con niveles virales por debajo del límite de detección de los métodos diagnósticos disponibles. No obstante la OMS estima que en el 43% de los países en vías de desarrollo no se hace un despistaje adecuado del VHC en la sangre o productos sanguíneos destinados a donaciones (16). El riesgo también ha disminuido en hemofilias y talasemias por la utilización de factores recombinantes de la coagulación.
- Nosocomial: la mejora en las medidas de seguridad de los procedimientos sanitarios, la utilización de inyecciones desechables, el perfeccionamiento en la desinfección de material reutilizable y la adherencia a protocolos de control de infecciones ha disminuido la transmisión nosocomial. Sin embargo, aún sigue existiendo, incluso en países con medidas sanitarias bien desarrolladas. Suele ocurrir en áreas donde la prevalencia de VHC es elevada. Un ejemplo de ello son las

unidades de diálisis donde la prevalencia ha descendido desde el 60% alcanzado en algunas series hasta menos del 5%. Otros orígenes son el uso de viales multidosis e intervenciones quirúrgicas. Aunque la importancia relativa de la transmisión nosocomial es probablemente pequeña, este mecanismo no es infrecuente. Se ha estimado que aproximadamente 2 millones de infecciones por VHC se adquieren por esta vía anualmente (10). En un estudio realizado en 12 centros hospitalarios italianos entre 1999 y 2004, 214 pacientes fueron diagnosticados de hepatitis aguda C y en el 32% el mecanismo de transmisión se relacionó con un procedimiento invasivo. Otro estudio Español retrospectivo sobre hepatitis C aguda que incluía 103 pacientes atendidos en distintos hospitales entre 2000 y 2005, mostró que una proporción elevada de los nuevos casos de hepatitis C (70%) se adquirió en los hospitales (17). Por lo tanto una proporción significativa de portadores del VHC se concentran en la asistencia sanitaria y cuando las medidas de seguridad no se adoptan de forma rigurosa el riesgo de transmisión nosocomial es considerable.

- Consumo de drogas vía parenteral (UDVP): ha sido la principal vía de transmisión en Estados Unidos y Australia en los últimos 40 años, y ahora lo es en muchos otros países de Europa del norte, sur y occidente. Además se está convirtiendo en una de las vías principales de transmisión en países con economías emergentes, con un gran aumento en Europa del Este. Se ha estimado en Europa una tasa media de 5,3 UDVP por 1000 habitantes de entre 16-64 años, lo que supondría 1,7 millones de UDVP en Europa. No obstante la prevalencia real debe ser mucho mayor puesto que no disponemos de datos procedentes de algunas zonas como por ejemplo los países del sur y el este de Europa. Se estima una prevalencia alrededor del 60% de infecciones por este mecanismo, aunque los datos disponibles son muy heterogéneos entre distintos países e incluso entre distintas zonas de un mismo país. Este mecanismo es uno de los más eficaces en la transmisión del VHC. Los factores asociados con un mayor riesgo de infección por VHC son la edad, la duración y la frecuencia del consumo, compartir jeringuillas, cargar droga disuelta en jeringas usadas por otros (front/back loading), consumir droga de un recipiente donde otros

hayan utilizado sus jeringas, lavar la jeringa con líquido usado por otros con igual fin, la prevalencia del VHC entre los UDVP con experiencia, falta de vivienda y el cumplir condena en prisión. A pesar de intervenciones para intentar prevenir el contagio del VHC en UDVP, se alcanzan unas tasas de incidencia anuales entre 11 y 42 por 100 personas, principalmente en la población joven. Por tanto existe un mayor número de enfermos jóvenes infectados que desarrollan hepatitis crónica C (HCC), el número de infectados por el genotipo 4 ha aumentado frente al 1b y 2 (más frecuente en donantes de sangre) (7).

- Otros mecanismos de transmisión: son la exposición perinatal, relaciones sexuales y transmisión ocupacional, menos eficaces en comparación con los mecanismos ya expuestos. La transmisión perinatal del VHC es del 4-7%, siempre que el RNA-VHC sea detectable en la madre en el momento del parto. El trabajo de parto prolongado tras la ruptura de la placenta y la monitorización fetal interna suponen mayor riesgo de infección perinatal. La transmisión sexual es poco frecuente y se relaciona con la promiscuidad y relaciones sin protección con parejas infectadas recientemente con alta carga viral. La transmisión ocupacional prácticamente se limita a los profesionales sanitarios que han recibido inyecciones accidentales de material contaminado y suelen ser lesiones profundas. La transmisión no ocurre tras la exposición de sangre a mucosa o piel intacta. La prevalencia de la infección entre los profesionales de la salud, incluidos los quirúrgicos, no es superior a la de la población general (1-2%) (10). No se ha demostrado mayor riesgo de infección por VHC asociado a tatuajes y piercing siempre que se realicen en centros profesionales a diferencia de los realizados en centros penitenciarios o lugares con falta de esterilidad (18).

## **1.4. Diagnóstico**

### **1.4.1. Métodos serológicos:**

La detección de anticuerpos anti-VHC en suero o plasma se realiza mediante técnicas de enzimoimmunoanálisis (EIA) de tercera generación basados en la captura de anticuerpos contra epítomos presentes en proteínas recombinantes (core, NS3, NS4 y NS5). Tras la infección por el VHC los anticuerpos serán detectados entre 6-8 semanas después. En inmunocompetentes con HCC la sensibilidad y especificidad de estas técnicas son superiores al 99%. En inmunodeprimidos su sensibilidad es inferior, por lo que un resultado negativo no descarta exposición o infección por el virus (19).

### **1.4.2. Detección del RNA-VHC circulante**

El RNA-VHC es detectable en plasma tras la primera semana de la exposición y es el marcador diagnóstico más adecuado para el diagnóstico de la HCC. La detección del RNA viral requiere el uso de técnicas de amplificación moleculares, en las que se sintetizan numerosas copias del genoma mediante una reacción enzimática cíclica. Se utilizan dos tipos de reacción, la PCR y la amplificación isotérmica mediada por transcripción (TMA). La determinación del RNA viral puede ser cualitativa que suele ser más sensible o cuantitativa. Ambos métodos son muy sensibles y su especificidad es cercana al 99%. Sus límites de detección oscilan entre 10 y 50 UI/mL. Se ha estandarizado la unidad de medida del RNA VHC, en unidades internacionales (UI) (20). Las técnicas cuantitativas han mejorado su sensibilidad tras el desarrollo de las técnicas de PCR en tiempo real, permitiendo una cuantificación exacta del nivel de RNA, lo que las hace muy útiles en la monitorización del tratamiento antiviral (21).

### **1.4.3. Métodos diagnósticos de la fibrosis hepática**

La evaluación del estadio de fibrosis hepática en la práctica clínica es útil para diferenciar los pacientes con fibrosis leve de aquellos con fibrosis avanzada, además de

identificar aquellos en estadio cirrótico, lo que implica un seguimiento estrecho y el despistaje de las complicaciones asociadas al desarrollo de la cirrosis. Es importante previo al tratamiento establecer la fibrosis hepática, que nos aportará información sobre las posibilidades de respuesta al tratamiento y la evolución de la lesión hepática en aquellos pacientes que se van a retratar. En pacientes con respuesta virológica sostenida (RVS) los métodos diagnósticos de fibrosis nos permiten evaluar la mejoría histológica tras el tratamiento, que con los métodos de diagnóstico no invasivos podremos repetir a largo plazo sin riesgo de complicaciones (22).

#### **1.4.3.1. Histológico**

La biopsia hepática ha sido y sigue siendo una herramienta fundamental en el diagnóstico y pronóstico de las enfermedades del hígado. Permite no solo llegar a un diagnóstico histológico, sino también excluir otras enfermedades y evaluar el grado de lesión (inflamación, esteatosis y fibrosis). La fibrosis hepática es, sin duda, la variable que más impacto tiene en el pronóstico de las enfermedades crónicas del hígado, independientemente de la etiología. En la HCC se recomendaba su realización antes de iniciar el tratamiento, para evaluar el grado y estadio de la lesión hepática, puesto que aquellos con mayor grado de fibrosis tienen menor posibilidad de respuesta al tratamiento y mayor probabilidad de progresión de la enfermedad. Sin embargo, hoy día se recomienda, aunque no es imprescindible, una valoración inicial, previa al tratamiento de la lesión hepática. No obstante la ausencia de un estudio histológico no puede condicionar la posibilidad de tratamiento antiviral en la HCC. La biopsia hepática además proporciona información sobre otras alteraciones histológicas concomitantes, como son la esteatosis y la presencia de depósitos de hierro, que pueden agravar la evolución de la enfermedad y disminuir la respuesta al tratamiento (23). Existen varios sistemas de puntuación. Los más utilizados en Europa son METAVIR, Scheuer, Ishak, y el Índice de Actividad Histológica de Knodell. Los sistemas de Metavir y Scheuer son más reproducibles y menos propensos a la variabilidad interobservador, pero con

menor capacidad para discriminar tanto la fibrosis como la necroinflamación que los sistemas de Ishak y Knodell. La biopsia permite diferenciar aquellos pacientes con mayor grado de lesión histológica, que se beneficiarían en mayor grado del tratamiento antiviral (24). Sin embargo existen varias limitaciones que cuestionan actualmente su papel en la HCC. Entre ellas destaca la evaluación de la fibrosis semicuantitativa, controvertida por diferentes motivos. La principal razón es que el fragmento de tejido que se obtiene es muy pequeño y solo representa 1/50.000 partes del hígado y existe el riesgo de que esta parte pueda ser irrelevante, puesto que las lesiones pueden tener una distribución heterogénea. Se estima que los cilindros hepáticos deben tener una longitud mayor o igual a 20 mm o incluir al menos 11 espacios porta para que la evaluación histológica de la fibrosis hepática sea óptima. No obstante, la mayor parte de los estudios no especifican estos datos. Por ello, es muy frecuente que la evaluación cuantitativa de la fibrosis sea inexacta, pudiendo clasificar de manera errónea hasta el 25% de las biopsias debido al error de muestra. Otro aspecto limitante es el error interobservador, que dependerá de forma significativa de la experiencia del patólogo. Un estudio que evaluó las diferencias interobservador entre 10 patólogos con experiencia, obtuvo un acuerdo importante en el estadio de fibrosis (kappa 0,78) mientras que las diferencias fueron considerables en el grado de actividad inflamatoria (25). Por otra parte, la cuantificación de la fibrosis depende de la clasificación utilizada, haciendo difícil comparar los estudios que no utilizan una misma clasificación. Sin duda, la limitación más importante de la biopsia hepática es que se trata de una técnica invasiva asociada a un cierto grado de morbimortalidad. El dolor después del procedimiento es muy habitual (hasta el 84% de los pacientes) y, aunque con poca frecuencia, a veces se asocia a complicaciones graves como hematomas (1/500 casos) o hemoperitoneo (entre 1/2.500 y 1/10000 casos) e incluso el fallecimiento, generalmente relacionado con la presencia de hemorragia (1/10.000 casos) (26).

Estos aspectos limitan la utilización de la biopsia, lo que ha motivado en los últimos años el desarrollado de métodos diagnósticos alternativos, no invasivos, en pacientes con HCC. Ellos incluyen marcadores serológicos y los métodos de imagen que incluyen la elastografía hepática transitoria (ET).

#### **1.4.3.2. Métodos no invasivos de evaluación de la fibrosis**

##### **1.4.3.2.1. Marcadores serológicos**

Su rendimiento cuando se utilizan de forma independiente o combinados es aceptable en la identificación de pacientes con fibrosis leve y cirrosis, aunque su poder para discriminar estadios de fibrosis intermedios es menor. Entre los métodos propuestos se incluyen test indirectos de fibrosis basados en pruebas de función hepáticas, test directos basados en proteínas de la matriz extracelular y métodos físicos para estimar la fibrosis (22).

##### a) Métodos indirectos:

1. Proporción aspartato amino transferasa/alanino amino transferasa (AST/ALT): valores superiores a 1 son sugestivos de cirrosis. Esto se relaciona con un aumento de la liberación de AST mitocondrial, un menor aclaramiento de AST y/o un déficit en la síntesis de ALT en hepatopatías avanzadas. Aunque es un método simple tiene baja sensibilidad (53,2%) y valor predictivo negativo (80,7%) (27).
2. Recuento plaquetario: la fibrosis hepática puede generar trombocitopenia, como consecuencia de un déficit en la síntesis de trombopoyetina o por secuestro esplénico (por un bazo aumentado de tamaño). Existen pocos datos sobre el valor diagnóstico del recuento de plaquetas, aunque el recuento de plaquetas se incluye en varias clasificaciones de fibrosis compuestas (28).
3. El test APRI o índice AST/plaquetas: se calcula con el cociente entre el límite superior de la normalidad de AST dividido por el recuento de plaquetas ( $10^9 / L$ )

multiplicado por 100. El test de APRI puede identificar con un alto grado de precisión tanto fibrosis significativa como cirrosis cuando se utilizan valores de corte apropiados, aunque los valores de sensibilidad y valor predictivo negativo son variables según los estudios (29).

4. Modelo 3 o de Lok: basado en la cuantificación de plaquetas, AST y tiempo de protrombina, mediante una fórmula. Utilizado para la predicción/exclusión de cirrosis en pacientes con HCC. Utilizando un valor de corte menor de 0,20, se puede excluir cirrosis con un valor predictivo negativo del 99% (30).
5. Índice de Forns: modelo matemático que combina edad, gamma glutamil transferasa (GGT), colesterol y cuantificación de plaquetas, mediante una fórmula matemática. Tiene una sensibilidad para el diagnóstico de fibrosis avanzada (F2-F4 METAVIR) del 94%, y un valor predictivo negativo del 96%. Predice de forma precisa la ausencia de fibrosis significativa, pudiendo sustituir las biopsias en más de un tercio de los pacientes con HCC (31).
6. Fibrotest/Fibrosure: este índice se calcula combinando 5 marcadores bioquímicos indirectos de fibrosis, ajustados a la edad y sexo. Incluyen la alfa-2-macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteína A1, GGT y la bilirrubina total, y es llamado Fibrotest en Europa y Fibrosure en EEUU. Coincide con los hallazgos de biopsias en aproximadamente el 50% de los pacientes y es uno de los pocos test serológicos validados. La precisión diagnóstica de esta prueba está limitada cuando existe hemólisis (que conduce a una reducción de la haptoglobina), síndrome de Gilbert (aumentando el nivel de bilirrubina), e infección reciente o en curso (que conduce a elevaciones de alfa-2-macroglobulina y haptoglobina) (22, 32).
7. FibroIndex: índice propuesto por investigadores Japoneses que incluye la cuantificación de plaquetas, AST y GGT. El área bajo la curva para predecir fibrosis significativa fue de 0,83, ligeramente superior al APRI e índice de Forns evaluados en el mismo estudio (33).

Estos métodos pueden tener un índice de baja o alta probabilidad, lo que supone una limitación importante. Cuando tienen un índice de baja probabilidad, la sensibilidad para predecir fibrosis significativa es elevada pero la especificidad es baja. Sin embargo los índices de elevada probabilidad, tienen baja sensibilidad para predecir fibrosis significativa pero una especificidad elevada. Estas variaciones son típicas de todos los métodos diagnósticos serológicos disponibles actualmente (34).

b) Métodos directos de fibrosis:

Los niveles séricos de proteínas de la matriz extracelular reflejan el balance entre la fibrogénesis y fibrolisis hepática. Estas proteínas se han propuesto como marcadores directos de fibrosis hepática (biomarcadores). Sin embargo estos biomarcadores se relacionan directamente con el depósito de material fibrótico, por lo que su rendimiento diagnóstico puede estar limitado por factores de confusión extrahepáticos como la inflamación sistémica o la insuficiencia renal. Además estos marcadores reflejan un proceso dinámico (fibrogénesis y/o fibrolisis) más que la existencia de fibrosis.

1. **Ácido hialurónico:** se trata de un polisacárido presente en la matriz extracelular que se eleva a nivel sérico en pacientes con fibrosis hepática. Existen dispositivos diagnósticos comercializados. Su eficacia diagnóstica ha demostrado ser superior al péptido N terminal del procolágeno III y se ha confirmado en estudios de HCC (35).
2. **Proteínas de la matriz extracelular:**
  - **Péptidos procolágenos:** el péptido N terminal del procolágeno III es un producto de degradación del procolágeno y ha demostrado una eficacia diagnóstica moderada en pacientes con HCC.
  - **Metaloproteinasas de la matriz e inhibidores:** las metaloproteinasas de la matriz degradan el exceso de proteínas de la matriz extracelular y pueden ser inhibidas. Ambas se relacionan con el recambio de la

matriz proteica, sin embargo no existen datos fiables sobre su correlación con la fibrosis hepática.

- YKL-40: es una glicoproteína relacionada con la degradación de la matriz extracelular. Ha demostrado una eficacia diagnóstica similar al ácido hialurónico en el diagnóstico de fibrosis significativa pero inferior en el diagnóstico de cirrosis (36).

c) Métodos combinados:

1. Fibrospect II: combina ácido hialurónico, inhibidores de metaloproteinasas de la matriz y alfa-2-macroglobulina (37).
2. Ensayo europeo de fibrosis hepática (ELF): crean un método que combina la edad, péptido N terminal del procolágeno III e inhibidores de metaloproteinasas de la matriz (38).
3. Hepascore: combina bilirrubina, GGT, ácido hialurónico, alfa-2-macroglobulina, edad y sexo (39).

Actualmente muchos índices no invasivos de fibrosis hepática tienen la misma capacidad diagnóstica. Sin embargo, no hay ningún marcador que cumpla los requerimientos del marcador sérico ideal. Estos pueden identificar los pacientes con enfermedad hepática avanzada (F3/F4) y leve (F0/F1), pero no son tan buenos en pacientes con grados intermedios de fibrosis y no pueden discriminar de forma precisa entre distintos estadios de fibrosis. Además ninguno de estos test ha demostrado ser útil en el seguimiento de la progresión de la fibrosis, aunque pueden reflejar mejoría tras el tratamiento antiviral. Por último, muchos de estos métodos solo están disponibles en investigación, son muy caros y pocos se han comparado en estudios con los métodos habituales (40).

#### **1.4.3.2.2. Métodos físicos y de imagen**

Dado que los cambios estructurales significativos están presentes sólo en hepatopatía crónica avanzada, los estudios de rutina con ultrasonido, tomografía computarizada y resonancia magnética nuclear (RNM) podrían aportar información, pero han demostrado tener una sensibilidad muy limitada. Por lo tanto, se están desarrollando nuevos avances tecnológicos que nos ayuden en el diagnóstico radiológico de la fibrosis hepática.

1. RNM con doble contraste (gadolinio): ya utilizado en la caracterización y diagnóstico de lesiones focales hepáticas, se ha evaluado de forma retrospectiva, con adecuada capacidad diagnóstica para el diagnóstico de fibrosis avanzada. Actualmente están en desarrollo estudios para evaluar su capacidad de evaluar el estadio de fibrosis de forma prospectiva (41).
2. Difusión por RNM: esta técnica permite medir el coeficiente de difusión aparente del agua, parámetro que depende de la estructura del tejido. Se utiliza para evaluar la fibrosis del hígado. El valor de dicho coeficiente en hígados con fibrosis avanzada es menor, debido a la dificultad de la difusión del agua en el tejido fibrótico. Estudios que han comparado este método con otros métodos no invasivos obtienen resultados similares en el diagnóstico de fibrosis significativa. Además de la fibrosis, parece que los valores del coeficiente de difusión aparente del agua puede reflejar el grado de inflamación, necrosis y esteatosis. No obstante, diversos factores técnicos pueden generar diferencias en la estimación del coeficiente, que es variable según los estudios, solapándose los valores normales con los anormales según el estudio. Por lo que es necesario establecer rangos estandarizados del coeficiente de difusión aparente del agua en los distintos centros. Se están desarrollando otras técnicas de resonancia para evaluar la fibrosis como son la espectroscopia por RNM (42).
3. Métodos de perfusión: tanto por RNM como por eco-doppler se ha estudiado los cambios en la perfusión hepática para evaluar la progresión de la fibrosis.

Por ejemplo, se produce un descenso en el tiempo de tránsito de la vena hepática. Además, los cambios progresivos hepáticos van obliterando los vasos intrahepáticos y los sinusoides por lo que disminuye la velocidad de paso del flujo sanguíneo hepático. Con el desarrollo de hipertensión portal, el flujo venoso portal disminuye y aumenta el flujo arterial hepático, creándose shunts intrahepáticos. Estos cambios pueden ser detectados mediante modelos de imagen dinámicos tras la infusión de contrastes. Estudios basados en simulaciones hallan diferencias en los parámetros de perfusión entre pacientes con y sin fibrosis avanzada (43).

4. Elastografía por RNM: utiliza un método modificado de estudio de contraste que evalúa las características de propagación de la onda en el hígado. La elasticidad es cuantificada utilizando una fórmula y se expresa en kilopascales (kPa). Tras obtener cuatro mediciones, se crean elastogramas (cuantitativos) e imágenes en color que representan la rigidez del tejido. Las ventajas que aporta son que permite analizar casi todo el hígado y su aplicabilidad en pacientes obesos y con ascitis. Sin embargo, no se puede utilizar en pacientes con sobrecarga férrica, además de ser muy costosa y consumir mucho tiempo para utilizarla en la práctica clínica diaria (42, 44).
5. Técnica de impulso de radiación acústica (ARFI): Mediante esta técnica, el tejido se comprime y la elasticidad tisular resultante se refleja en una imagen. Tomando esto como base, y en conjunción con la imagen ecográfica, aparece esta nueva técnica. Mide una región más pequeña que la ET pero tiene la ventaja de que el operador puede elegir la zona a estudiar. La ventaja es que se puede incluir en una máquina de ultrasonidos comercial. Los valores obtenidos tienen un rango muy pequeño (0,5-4,4 m/sg) que limita la definición de valores de corte en la toma de decisiones terapéuticas (45).
6. Elastografía en tiempo real: se trata de un sistema de ultrasonidos en tiempo-real que incorpora un módulo de elastografía que permite la estimación de la

fibrosis hepática con una sonda de ultrasonidos convencional durante una ecografía. Con resultados prometedores en estudios iniciales en hepatitis víricas, son necesarios más estudios que demuestren su utilidad diagnóstica (46).

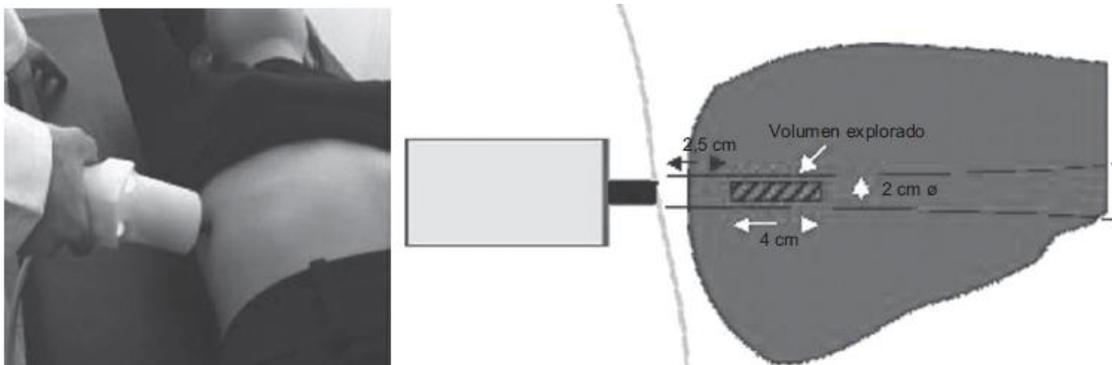
7. Elastografía hepática: se trata de una técnica basada en la evaluación de la elasticidad hepática por ultrasonidos, midiendo la propagación de una onda mecánica dentro del parénquima hepático (47).

#### **1.4.3.2.3. Elastografía transitoria (ET)**

Es una técnica descrita por primera vez en el año 2002, que aparece, como el resto de los métodos diagnósticos de la fibrosis hepática no invasivos, en el marco de la medicina actual, basada en la optimización de la eficacia de los métodos diagnósticos disponibles y también en la mejora progresiva de la calidad de vida de los pacientes.

Se trata de una técnica no invasiva, rápida y fácilmente reproducible, por lo que tiene una aceptación generalizada. El aparato dispone de una sonda emisor-receptor y un ordenador que procesa la información y genera una imagen de la onda elástica y el valor de la rigidez hepática expresado en kPa. La sonda se coloca entre las costillas a la altura del hígado, en el lóbulo hepático derecho, con el paciente en decúbito supino, con el brazo derecho en máxima abducción y perpendicular al plano de la piel (figura 3 (48)). Emite una onda mecánica corta de baja frecuencia. Esta onda de vibración se transmite dentro del parénquima hepático a una velocidad que depende de la rigidez del tejido, siendo más rápida cuanto más rígido es el tejido. La velocidad es detectada mediante ultrasonografía por la misma sonda y el software del aparato transforma la velocidad (m/s) en un valor de elasticidad (kPa). El volumen del tejido evaluado es un cilindro de aproximadamente 1 cm de ancho y 4 cm de longitud que se localiza entre 25 y 65 mm por debajo de la piel (dentro del hígado) y es cien veces superior al volumen evaluado con una biopsia (figura 3) (49).

Figura 3: Características técnicas del Fibroscan.



Se deben realizar 10 mediciones válidas en cada paciente. La tasa de éxito se calcula como el cociente entre el número de tomas válidas y el número total de tomas. El valor de la mediana se utiliza como representativo de la elasticidad hepática. La diferencia entre el percentil 25 y 75 de las exploraciones realizadas se denomina rango intercuartílico (RIQ) y nos da una idea de la dispersión de los resultados obtenidos. Se recomienda que el RIQ sea inferior al 30% del valor mediano, es decir que haya poca dispersión. También es importante el porcentaje de medidas válidas respecto al total de las realizadas, recomendándose que sea superior al 60% (42, 50). Es importante tener en cuenta que la ET se caracteriza por una elevada concordancia inter e intra-observador (kappa: 0,98) (51, 52).

Existen aspectos técnicos, como el posicionamiento de la sonda y la correcta interpretación de los valores artefactados que requieren de experiencia. En el 3% no se obtienen medidas y en el 16% las medidas obtenidas no son válidas (53). Puede ser difícil obtener registros en pacientes con espacios intercostales pequeños o con obesidad (porque el tejido subcutáneo desplaza el hígado por debajo de la onda emitida por la sonda, además de atenuar tanto la onda elástica como el ultrasonido). El 20% de los pacientes con índice de masa corporal (IMC)  $\geq 28$  kg/m<sup>2</sup> tienen una exploración

incompleta o inválida. Además, en pacientes con ascitis no se puede realizar el registro, puesto que la onda elástica no se propaga a través de los líquidos. Los factores que han demostrado limitar el registro o imposibilitarlo son el  $IMC > 30 \text{ kg/m}^2$  y el aumento de la cintura, así como la falta de experiencia del explorador, mejorando los resultados cuando el operador ha realizado más de 500 exploraciones (obteniendo un 15,6% de resultados no válidos) frente a menos de 500 (30,5%). La necrosis hepatocelular se asocia con un incremento de la rigidez del hígado así, en los pacientes con hepatitis aguda severa con elevados niveles de ALT puede producirse una sobreestimación de la fibrosis hepática (54). Otros factores limitantes que aumentan la rigidez hepática son la congestión venosa por insuficiencia cardíaca y la dilatación de las vías biliares intrahepáticas. En casos de esteatosis hepatocelular y cirrosis macronodular la onda puede estar atenuada.

Comparado con los test serológicos para diagnóstico de fibrosis hepática en HCC la ET, permite una medida cuantitativa y directa de la fibrosis hepática y su resultado no está comprometido por trastornos extrahepáticos. No obstante los estudios que comparan los métodos serológicos y la ET obtienen buena correlación entre los resultados de ambos (50, 55). Los estudios demuestran que se trata de una técnica eficaz en el diagnóstico de cirrosis (F4), con un área bajo la curva Roc (AUROC) media del 94% y un valor de corte óptimo de 13,01 kPa para F4 (52). En un meta-análisis más reciente, se analizan 40 estudios y obtienen valores de sensibilidad y especificidad del 0,83 y 0,89 respectivamente para estadio F4, siendo el punto de corte óptimo 14,5 kPa (56). Para la fibrosis significativa ( $\geq F2$ ), punto a partir del cual la progresión de la fibrosis se acelera aumentando el riesgo de aparición de cirrosis, así como las complicaciones asociadas a la misma, el AUROC media es del 84%, y el valor de corte óptimo es de 7,65 kPa. Aunque la ET hepática, no es suficiente para el diagnóstico de fibrosis significativa, la combinación de parámetros clínicos y otros métodos diagnósticos no invasivos puede ser una herramienta muy útil en la toma de decisiones dirigidas al tratamiento. Concretamente, su asociación con el FibroTest ha demostrado un AUROC del 0,88 en

el diagnóstico de fibrosis significativa (57). Los distintos valores de corte obtenidos en los estudios, pueden ser secundarios a diferencias en la prevalencia de los estadios de fibrosis entre las poblaciones de los estudios. Un valor de corte para una población podría no ser aplicable a otra, que tiene una prevalencia diferente de la enfermedad. No se han establecido aún valores de corte óptimos validados para los distintos estadios de fibrosis, existiendo una importante superposición entre los distintos estadios, especialmente en estadios de fibrosis intermedia y entre las distintas etiologías (52).

Existen algunos estudios que tratan de estratificar los pacientes diagnosticados de cirrosis, relacionando puntos de corte específicos con la aparición de disfunción hepática, riesgo de desarrollo de hipertensión portal y sus complicaciones así como la aparición de hepatocarcinoma (CHC). Se ha tratado de demostrar la asociación de valores de la ET con el gradiente de presión portal y la presencia de varices esofágicas, aunque los resultados son muy heterogéneos, por lo que son precisos estudios prospectivos que permitan establecer la utilidad de la ET para predecir la probabilidad de descompensación en pacientes cirróticos (58).

Respecto a la monitorización tras la respuesta al tratamiento, se ha evaluado la utilidad de los métodos diagnósticos no invasivos. No obstante, son escasos los estudios comparativos con la biopsia hepática y es poco probable que se lleven a cabo por razones éticas. Dado que estos métodos pueden realizarse de forma repetida sin complicaciones, son muy atractivos en el seguimiento tras el tratamiento. El método más evaluado ha sido la ET y se han publicado algunos estudios en los que se analiza la evolución de la fibrosis, obteniendo un valor basal previo al inicio del tratamiento y hasta dos años tras su finalización, que demuestran una reducción significativa en los valores obtenidos con la ET en aquellos que alcanzan RVS (59-62). Además, esta mejoría en el resultado de la ET durante el tratamiento ocurre tanto en RVS como en no respondedores (NR). Sin embargo, tras la finalización del tratamiento solo aquellos que alcanzan RVS continúan con un descenso progresivo y significativo de la elasticidad hepática (59). Hay que tener en cuenta la influencia de los valores de ALT en el

resultado de la ET, pudiendo reducir el resultado de la misma debido a una reducción de la actividad inflamatoria más que de la fibrosis. No obstante un estudio en el que se realizaron varias determinaciones durante el tratamiento y después del mismo, obtuvo un descenso significativo tanto en respondedores como no respondedores durante el tratamiento; pero tras la RVS la elasticidad hepática continuó disminuyendo de forma significativa en aquellos que consiguieron erradicar la infección (22). Todos estos estudios han analizado los posibles factores que pueden influir la regresión del resultado de la ET, entre los que se encuentran la actividad necroinflamatoria basal, el IMC, la edad, la carga viral y todos los estudios coinciden en la RVS como factor fundamental para la regresión de la elasticidad hepática tras el tratamiento. Otros estudios han evaluado la elasticidad hepática tras tratamiento en series de pacientes con biopsias pretratamiento y analizan la evolución de la fibrosis a largo plazo (entre 4-7 años tras finalizar el mismo) comparando los resultados de la biopsia y la ET (63-65). En estos estudios se aprecia una regresión significativa de los estadios de fibrosis a largo plazo en los pacientes con RVS frente a NR, incluso en aquellos en estadio cirrótico en la biopsia pretratamiento. Y unos valores medios en la ET significativamente menores entre los respondedores (63). No obstante debemos tener en cuenta que la ET obtiene valores cuantitativos continuos a diferencia de la biopsia hepática, cuyos resultados son categóricos y descriptivos, no existiendo, entre ambos métodos diagnósticos, una relación cuantitativa (56).

Ante estos datos podemos inferir que no existe una prueba diagnóstica de fibrosis hepática perfecta. La biopsia permite evaluar los cambios estructurales, como la formación de nódulos así como el tejido fibrótico y la ET no puede valorar las alteraciones en la arquitectura hepática con una cantidad limitada de fibrosis hepática como en la cirrosis macronodular o fibrosis extensa delimitada por septos delgados; sin embargo, su rendimiento es mayor en el diagnóstico de cirrosis micronodular que en la cirrosis mixta o macronodular. Por lo que ambas pruebas diagnósticas nos aportan

distinto tipo de información y pueden aportar datos complementarios sobre la progresión de la enfermedad (66, 67).

## **1.5. Clínica e historia natural**

### **1.5.1. Infección aguda**

Una vez transmitida la infección por el VHC, el RNA-VHC será detectable entre 7 y 21 días después, alcanzando picos de replicación poco antes del pico de alanina aminotransferasa (ALT) y del comienzo de los síntomas. Sin embargo se han descrito periodos más largos de incubación, especialmente cuando el inóculo de VHC es pequeño. Lo que sugiere que el periodo de incubación de la infección puede variar según el mecanismo de transmisión de la infección. Entre la 2 y 12 semana aumentan los valores de ALT en suero, alcanzando con frecuencia niveles superiores a 10 veces el límite superior de la normalidad, que traduce la necrosis del hepatocito. Algunos pacientes desarrollan síntomas clínicos entre 2 y 12 semanas tras la infección, aunque la mayoría (70-80%) permanecen asintomáticos durante la fase aguda y no llegan a tener síntomas, por lo que no es fácil la investigación de las fases agudas de la hepatitis C (68). Los síntomas son inespecíficos: malestar general, fatiga, náuseas, dolor abdominal, anorexia, febrícula, prurito o mialgias. Entre el 50-84% desarrollan ictericia, según distintas series. Cuando la hepatitis aguda por VHC es autolimitada los síntomas pueden durar varias semanas y mejorar coincidiendo con el descenso en los niveles de viremia y ALT. Algunos estudios han postulado que los pacientes sintomáticos tienen una mayor tasa de eliminación espontánea que los pacientes asintomáticos (69). La hepatitis aguda por VHC raramente ocasiona un fallo hepático fulminante.

Los anticuerpos del VHC son detectables cerca del inicio de los síntomas, entre 1 y 3 meses tras la exposición, aunque hasta el 30% de los pacientes mantendrán los anticuerpos negativos cuando comiencen los síntomas. Además en inmunodeprimidos los títulos de anticuerpos pueden ser bajos o indetectables. Es por ello que la

determinación de los anticuerpos del VHC no es una técnica fiable en el diagnóstico de la hepatitis aguda por VHC y en este grupo de pacientes aunque todas las guías clínicas recomiendan su determinación como primer paso, deben realizarse también determinaciones del RNA-VHC (70).

La infección por VHC se autolimita sólo en el 15-25% de los pacientes, en los que el RNA-VHC es indetectable y los niveles séricos de ALT vuelven a la normalidad.

### **1.5.2. Infección crónica**

Aproximadamente el 75-85% de los pacientes infectados no aclaran el virus a los 6 meses desarrollando una hepatitis crónica, definida como la persistencia del RNA-VHC 6 meses tras la infección aguda, a pesar de que las respuestas inmunitarias, tanto celulares como humorales son intensas (69). Una vez que se establece la infección crónica por VHC, el daño hepático continuo puede progresar hasta producir una cirrosis hepática y posteriormente un hepatocarcinoma (CHC). Sin embargo la evolución del daño hepático no es lineal. Se han descrito al menos la presencia de tres poblaciones de progresión de fibrosis: lenta, intermedia y rápida (71). Por lo que, la determinación de una media de progresión de fibrosis por año y un tiempo medio hasta la aparición de cirrosis (0,133 unidades/año), no significa que esta progresión sea universal e inevitable. Se estima que entre el 2-16% de los infectados crónicamente desarrollaran cirrosis a los 20 años y la probabilidad aumenta casi tres veces más a los 30 años tras la infección (41%) (72, 73). La mayor progresión se aprecia en los estudios de historia natural procedentes de centros de referencia, donde las cifras de progresión alcanzan hasta un 37% frente a estudios de cohortes comunitarias en los que la progresión está en torno al 7%, estas diferencias se justifican por sesgos de selección. Los datos procedentes de estos últimos se consideran más representativos de la progresión de la HCC en la población general (74).

### **1.5.2.1. Factores asociados a la progresión de la hepatitis C crónica (HCC)**

Se han identificado numerosos factores que contribuyen a la progresión de la lesión hepática en la HCC. Podemos clasificarlos en factores dependientes del huésped y factores dependientes del virus.

#### **1.5.2.1.1. Factores dependientes del huésped**

- Edad: la duración de la infección ha demostrado ser un predictor de la progresión de la enfermedad, sin embargo la edad en el momento de la infección es más importante. Múltiples estudios han demostrado que a mayor edad en el momento de la infección mayor velocidad de progresión de la fibrosis independientemente de la duración de la infección. Se ha estimado que la edad de 40 años es el umbral para una progresión más rápida de la fibrosis (75). De hecho los pacientes infectados durante la infancia presentan una progresión lenta de la enfermedad (76). No están claros los mecanismos por los que la edad afecta a la progresión de la enfermedad, aunque se ha sugerido que puede ser debido a cambios en la función del sistema inmune y cambios en la capacidad para tolerar la infección por VHC. Tras el trasplante hepático, la edad del donante se ha relacionado con la progresión de la fibrosis hepática, independientemente de la edad del receptor (77). También la toxicidad por fármacos y la hepatitis aguda por virus A son más severas a mayor edad. Por lo que parece que con la edad disminuye la capacidad hepática para tolerar los insultos tóxicos (78).
- Sexo: numerosos estudios han demostrado una progresión más rápida en el género masculino hacia la cirrosis hepática y el desarrollo de carcinoma hepatocelular, incluso cuando se controlan otros factores como el consumo de alcohol, la obesidad y la sobrecarga férrica. El riesgo es 2,5 veces superior en hombres que en mujeres. Parece que puede ser debido a un efecto protector de los estrógenos. En estudios realizados en ratas, los estrógenos han demostrado

bloquear la proliferación y fibrogénesis de las células estrelladas en cultivos celulares, modificando la expresión de factores de crecimiento y otros mediadores. Las mujeres nulíparas y postmenopáusicas tienen mayor tasa de progresión de la fibrosis y la utilización de terapia hormonal sustitutiva reduce las tasas de progresión en postmenopáusicas (79).

- Alcohol: el consumo de alcohol aumenta la progresión de la fibrosis y la mortalidad por VHC. El umbral por encima del cual se acelera la progresión de la enfermedad se desconoce, pero se estima que oscila entre 30-80g/día y el efecto parece ser sinérgico por encima de 50g/día. El patrón histológico en los alcohólicos infectados por el VHC es el característico del VHC, más que el del alcoholismo, lo que sugiere que este último empeora la enfermedad provocada por el virus, en lugar de causar un daño aditivo de otra naturaleza. Esto puede ser debido a una disfunción del sistema inmune por el alcohol, el estrés oxidativo y la esteatosis que conducen a la apoptosis, e incluso al aumento de la replicación viral. El estímulo de citoquinas proinflamatorias y profibróticas también son importantes (80). La influencia del tabaco y el cannabis en sentido negativo también ha sido postulada, y aunque existen controversias en los distintos estudios, parece que la hipoxia induce la expresión factores de crecimiento del endotelio vascular. Por tanto aunque la relación del consumo de tabaco con la progresión de la HCC no está clara, se recomienda su abandono en pacientes con enfermedades hepáticas (81).
- Sobrecarga férrica: tanto la sobrecarga férrica como la infección por VHC pueden producir fibrosis hepática. En distintos estudios se ha evaluado el efecto del hierro en la progresión de la HCC. Los pacientes con hemocromatosis hereditaria e infección por VHC desarrollan fibrosis avanzada a menor edad y con menores niveles de sobrecarga férrica que pacientes con una sola de estas patologías. En politransfundidos por talasemia con HCC también se ha demostrado esta potenciación. Sin embargo en pacientes con sobrecarga férrica

moderada y en heterocigotos los datos de los distintos estudios son discordantes, por lo que no existe evidencia suficiente que explique la diferente evolución de este grupo de enfermos (82).

- Inmunosupresión: la lesión hepática que produce la infección por VHC se debe a una combinación de los efectos citopáticos directos del virus y los mecanismos de tipo inmunitario desencadenados para tratar de eliminar la infección. La inmunodepresión aumenta la agresividad de la evolución de la HCC.
  - o Coinfección con VIH: dado que ambos virus comparten los mecanismos de transmisión, es común la coinfección VIH- VHC. En Europa el 33% de los infectados por el VIH presentan una coinfección por el VHC. Tras la aparición de la terapia antirretroviral, la hepatopatía por VHC se ha convertido en la principal causa de muerte en pacientes infectados por VIH. Este grupo de pacientes tienen un aumento del riesgo de progresión a cirrosis y de descompensación de la hepatopatía frente a los mono infectados por el VHC. Los factores que influyen en la mayor progresión de la hepatopatía son los bajos niveles de CD4 (<200 Cel/mm<sup>3</sup>), mayor edad en el momento de la infección por VHC y el consumo concomitante de alcohol (>50 g/día) (83).
  - o Inmunosupresión farmacológica: la evolución de la infección por VHC en los enfermos sometidos a inmunosupresión, fundamentalmente pacientes sometidos a trasplantes de órganos, es más agresiva, estando acelerado el desarrollo de fibrosis y progresión a cirrosis. Numerosos factores se han relacionado con la progresión de la fibrosis como el tipo de inmunosupresión, la edad del donante, la carga viral pre y post trasplante y el genotipo del VHC. Sin embargo, dado que son muchas las variables implicadas, los datos que se extrapolan de pacientes

trasplantados con VHC son limitados y difícilmente aplicables en otros escenarios de inmunosupresión (84).

- Factores metabólicos: el efecto esteatogénico del VHC es controvertido. En la infección por el genotipo 3 la presencia de esteatosis se relaciona con la replicación viral. Se presenta en pacientes no obesos y se resuelve tras el aclaramiento viral, lo que implica que es una consecuencia directa de la propia infección. La evidencia sugiere que algunas secuencias virales están involucradas en el acumulo intracelular de los lípidos y la inducción de estrés oxidativo por la proteína del core del VHC. En genotipo no-3, la esteatosis se relaciona con la presencia de obesidad y resistencia a la insulina, que no responde al tratamiento antiviral. Sin embargo el VHC puede promover la esteatosis fomentando la resistencia a la insulina o a través de efectos directos sobre los procesos celulares. Independientemente de cómo puede causar esteatosis el VHC, está claro que la presencia de grasa en los hepatocitos tiene un impacto negativo en la progresión de la HCC. Tanto la esteatosis como el índice de masa corporal son predictores independientes de progresión de la fibrosis en la infección por VHC. Las cifras de glucosa en ayunas y los niveles de insulina elevados han demostrado asociación con la progresión de la enfermedad (85). La activación de las células estrelladas y la sobreexpresión del factor de crecimiento del tejido conectivo, se establecen como posibles mecanismos de aceleración de la fibrosis. Otros mecanismos fibrogénicos posibles son la existencia de peroxidación lipídica en pacientes con VHC y su correlación con el grado de fibrosis. La respuesta inflamatoria antiviral es una fuente de radicales libres, citoquinas proinflamatorias y profibróticas. Además la apoptosis asociada a la esteatosis se correlaciona con el aumento de la fibrosis. Las células de Kupffer incluidas en cuerpos apoptóticos inducen la liberación de TGF- $\beta$ , lo que supone un fuerte estímulo para la activación de las células

estrelladas. Además las proteínas del core y no-estructurales han demostrado la inducción de estrés oxidativo dentro de las células infectadas (86).

#### **1.5.2.1.2. Factores dependientes del virus**

Aunque es un hecho establecido que la lesión es mediada fundamentalmente por factores del huésped, muchos estudios han evaluado el papel de los factores virales en la evolución de la infección por el VHC. Ni el genotipo ni la carga viral han demostrado efecto sobre la evolución de la lesión hepática (79).

#### **1.5.3. Evolución de la enfermedad**

Una vez que se ha establecido la cirrosis hepática la enfermedad puede tener un curso silente con elevadas tasas de supervivencia, siendo del 96%, 91% y 79% a los 3, 5 y 10 años respectivamente. La probabilidad acumulada de presentar un episodio de descompensación clínica durante el primer año del diagnóstico de la cirrosis es del 5%, y aumenta progresivamente con la evolución de la enfermedad, alcanzando valores del 30% a los 10 años. Las manifestaciones clínicas de la cirrosis hepática descompensada incluyen el desarrollo de ascitis, la hemorragia digestiva alta secundaria a varices o la gastropatía de la hipertensión portal, el síndrome hepatorenal y la encefalopatía hepática. Tras el primer episodio de descompensación de la cirrosis, la supervivencia a los 5 años desciende hasta el 50% (70). El riesgo de desarrollar CHC aumenta tras tres décadas de la infección, especialmente en los pacientes que desarrollan una cirrosis hepática. En este grupo la incidencia anual de CHC oscila entre 1-4%. Los pacientes diagnosticados de CHC tienen una probabilidad de fallecer el primer año tras el diagnóstico del 33%. La infección por VHC es la principal causa de tumores hepáticos primarios en Europa (87).

El impacto de la infección crónica por VHC en las tasas de mortalidad se ha analizado en distintos estudios de cohortes a largo plazo, demostrando que los pacientes con una infección crónica por VHC tienen mayor riesgo de mortalidad global que los pacientes que aclaran espontáneamente la infección, cuyas curvas de supervivencia se superponen

a las de la población general. Este riesgo difiere en los distintos estudios debido a que la población estudiada es diferente, los mecanismos de transmisión varían así como los factores de riesgo asociados y la metodología empleada, obteniendo cifras de Hazard Ratio (HR) que oscilan entre 1,5-3. Cuando se analizan de forma independiente las causas de mortalidad hepática y no hepática, se ha demostrado que aquellos con una infección crónica por VHC tienen una mortalidad significativamente mayor por causa hepática que los que aclaran la infección, principalmente a expensas del desarrollo de CHC, aunque también por otras complicaciones hepáticas, oscilando los valores de HR entre 2,4-16, dependiendo de la serie. En Europa el riesgo estimado en los distintos estudios está alrededor de 3 (88-90). Respecto a la mortalidad de causa no-hepática, dos estudios retrospectivos en una cohorte de veteranos americanos (91) y en otra australiana (92), han demostrado en los infectados crónicamente por el VHC, un aumento de la mortalidad por causa no-hepática, principalmente secundaria a enfermedades cardiovasculares. En otra cohorte prospectiva Taiwanesa también existe mayor riesgo de otras enfermedades de causa no-hepática además de las cardiovasculares, oscilando el HR entre 1,5-2.2, frente a los que aclaran la infección. Estos resultados sugieren que la HCC se podría beneficiar del tratamiento antiviral reduciendo la mortalidad global y de causa hepática. Por ahora tenemos un conocimiento limitado del impacto del tratamiento sobre la mortalidad de causa no-hepática (88).

### **1.6. Tratamiento.**

La amplia difusión de la enfermedad y las complicaciones derivadas del desarrollo de cirrosis han hecho necesario la aparición del tratamiento y el desarrollo progresivo de nuevos fármacos. El objetivo del tratamiento es la erradicación del virus para evitar la progresión de la enfermedad. Se considera que se ha erradicado la infección cuando se alcanza la RVS, definida como la ausencia de RNA del VHC en el suero del paciente, 6 meses después de haber finalizado el tratamiento.

El tratamiento para la HCC ha evolucionado sustancialmente, y desde que en el año 1986 se iniciara de forma empírica el tratamiento con interferón (IFN) alfa en monoterapia para la hepatitis no A no B (93), hemos asistido a un incremento considerable en las tasas de respuesta, que con la terapia estándar de IFN pegilado y ribavirina (RBV) se situaban en torno a un 50% de forma global (94). Con la aparición de los nuevos antivirales orales recientemente aprobados, estas cifras superan el 70% de RVS. La base del tratamiento de la HCC es el IFN. Los interferones son proteínas naturales que ejercen una amplia gama de acciones antivíricas, antiproliferativas e inmunomoduladoras. Inicialmente se administraban tres veces por semana 3 millones de unidades durante 12-24 semanas, alcanzando cifras de respuesta bioquímica (normalización de ALT) en torno al 45-51% y solo la mantenían el 21% a los 3-6 meses del cese del tratamiento (95). Cuando se inició la detección del RNA-VHC las tasas de respuesta fueron menores a las observadas previamente, la normalización de los niveles de ALT se alcanzó en el 47% de los tratados frente al 4% del grupo control al finalizar el tratamiento, y el 23 % frente al 2% a los 6 meses tras el fin del tratamiento. La respuesta virológica al final del tratamiento fue del 29% en el grupo tratado frente al 5% de los controles y a los 6 meses tras el fin del mismo, es decir la tasa de RVS era del 8% en los tratados frente al 1% en los controles. No demostraron superioridad dosis superiores de IFN, esquemas de inyecciones más frecuentes ni dosis de inducción. Por el contrario doblar la duración del tratamiento a 48 semanas aumentaba las posibilidades de alcanzar RVS hasta aproximadamente el 20% (96). La adición al tratamiento con IFN en el año 1998 de un análogo sintético de la guanósina, la RBV, mejoró los resultados del tratamiento, llegando a alcanzar cifras de RVS entre el 25-43% (97). El mecanismo de acción de la RBV sobre el VHC es desconocido, aunque se han propuesto varios efectos como la potenciación de la inmunidad celular del huésped frente a las infecciones víricas, la inhibición de la actividad de la inosina monofosfato deshidrogenasa en el huésped, reducción de la reserva intracelular de guanósina trifosfato e inducción de mutaciones en el RNA o un efecto antiviral transitorio (98).

Posteriormente, en el año 2001-2002 se modificó la estructura química del IFN, uniéndole una molécula de polietilenglicol. Esta asociación reducía la degradación y aclaramiento del IFN, aumentando su vida media, lo que permite administrarlo una vez por semana. Así se conseguían concentraciones más estables de IFN que con el IFN estándar, lo que redundaba en un mayor efecto antiviral (99). Las tasas de RVS globales alcanzaron valores del 54-56% asociado a la toma de RBV. Existen dos tipos de IFN pegilados, el IFN pegilado alfa-2b unido a una cadena lineal de polietilenglicol de 12 KD, administrado según el peso (1,5µg/kg) y otro el IFN pegilado alfa-2a, unido a una cadena ramificada de 40 kD, con una dosis fija de 180 µg, ambos semanalmente y no existen datos sobre la superioridad de un IFN pegilado frente al otro como terapia de primera línea (100).

Se han realizado múltiples estudios controlados, que evalúan distintas pautas terapéuticas según el genotipo y que demuestran que el tratamiento debe ser de 48 semanas para los genotipos 1 y 4 y de 24 semanas para los genotipos 2 y 3. La dosis de RBV dependerá del peso y del genotipo. Para genotipo 2 y 3 se administran dosis de 800 mg/día; sin embargo en los pacientes con genotipo 1 y 4 las posibilidades de respuesta son menores y las dosis de RBV deben ajustarse, entre 1000 mg/día y 1200 mg/día, según el peso corporal (<75 kg o ≥75 kg respectivamente) (101).

Las tasas de RVS son heterogéneas y están influidas por diversos factores virales y del huésped que influyen en la respuesta al tratamiento. Entre ellos destaca el genotipo (distinto al 1 se asocia a mejor respuesta al tratamiento), el estadio de fibrosis pretratamiento (cuanta mayor fibrosis peor respuesta al tratamiento), la carga viral basal elevada (> 600.000 o > 800.000 según el estudio) disminuye la probabilidad de respuesta. Otros factores predictivos de mala respuesta son la edad avanzada (>40 años), el sexo (masculino), la raza (afroamericanos), el índice de masa corporal (elevado), la resistencia a la insulina y el genotipo de la interleuquina-28B (característica inmunológica del huésped que se asocia con mayor probabilidad de repuesta al tratamiento combinado, el genotipo favorable es el CC y los desfavorables

TT y CT) (102). Los factores predictivos de respuesta durante el tratamiento son el mantenimiento de las dosis de los fármacos, la adecuada adherencia al tratamiento (que puede estar disminuida por los efectos adversos relacionados con el tratamiento) y la respuesta virológica precoz, definida como el descenso en el RNA-VHC al menos 2 log<sub>10</sub> UI/ml o la ausencia de RNA-VHC en la semana 12 del tratamiento. Cuando esto no se consigue debe suspenderse el tratamiento ya que la probabilidad del alcanzar respuesta viral sostenida es muy baja (menos del 2%), incluso en aquellos pacientes que negativizan el RNA-VHC en la semana 24. Esta norma de conducta tiene importantes implicaciones clínicas y económicas y deben respetarse de forma rigurosa (103).

Tras la caracterización molecular del virus C, se han desarrollado recientemente agentes antivirales directos, mejorando la eficacia del tratamiento. Estos fármacos se unen al sitio activo de la serín-proteasa NS3 y actúan bloqueando la liberación de proteínas no estructurales del virus, evitando la formación de complejos de replicación. Son fármacos con alta potencia antiviral, pero no se pueden utilizar en monoterapia por su baja barrera genética para el desarrollo de resistencias, que conlleva la selección de mutantes resistentes y el rebrote de la replicación viral. Los inhibidores de la proteasa disponibles en el momento actual son boceprevir y telaprevir (104, 105). Con la adicción de estos fármacos al tratamiento previo, las cifras de RVS alcanzan valores entre 70-75%. La posología, pautas de administración y las reglas de parada entre ambos difieren. Telaprevir se administra a dosis de 750 mg / 8h junto a IF pegilado y RBV durante 12 semanas seguido de un periodo de tratamiento adicional de 12-36 semanas de tratamiento combinado. En pacientes no cirróticos que en la semana 4 y 12 tienen niveles de RNA-VHC indetectable se puede acortar el tratamiento a 24 semanas. Debe suspenderse el tratamiento si el RNA-VHC es superior a 1000 UI/ml en la semana 4 o 12 y/o si el RNA-VHC es detectable en la semana 24. Boceprevir se administra a dosis de 800 mg/8h junto al IF pegilado y la RBV durante 24-44 semanas, precedida de 4 semanas de biterapia (IFN y RBV), denominada fase de lead-in. En pacientes no cirróticos que en la semana 8 y 24 tienen RNA-VHC indetectable se puede acortar el

tratamiento a 28 semanas en total. Se debe suspender en el tratamiento si el RNA-VHC es mayor a 100 UI/ml en la semana 12 o detectable en la semana 24. Los pacientes cirróticos independientemente del inhibidor de la proteasa utilizado, deben recibir tratamiento durante 48 semanas. En las guías disponibles actualmente no se recomienda el uso de la triple terapia para genotipos distintos al 1 (106).

En el momento actual hay varios fármacos antivirales directos en fase de ensayo, con diferentes mecanismos de acción, y que por lo general son empleados en combinación con la terapia actual:

- Inhibidores de Proteasas (NS3, NS4A).
- Inhibidores de Polimerasa (NS5B).
- Inhibidores NS5A.
- Inhibidores de la ciclofilina.

### **1.7. Impacto del tratamiento en la historia natural de la enfermedad.**

El objetivo principal del tratamiento es erradicar la infección evitando así la progresión de la enfermedad hepática. Cada vez es mayor la evidencia que apoya el mantenimiento de la respuesta virológica a largo plazo así como el beneficio histológico y clínico a largo plazo en estos pacientes.

#### **1.7.1. Erradicación del virus de la hepatitis C:**

La RVS se define como la indetectabilidad del RNA viral 24 semanas tras la finalización del tratamiento. Pero el VHC, que es principalmente hepatotropo, también puede invadir y replicarse en células del sistema inmune; de hecho, se estima que el 3% de los viriones están en reservorios extrahepáticos. Los estudios que tratan de clarificar si el VHC es erradicado totalmente del organismo tras el tratamiento antiviral obtienen resultados contradictorios. Las diferencias observadas podrían ser debidas a las distintas

técnicas empleadas en la detección del RNA-VHC, con distinta sensibilidad, así como a las diferentes muestras analizadas (suero, células de sangre periférica y tejido hepático). Cuando se analiza el RNA-VHC en tejido hepático tras alcanzar RVS, con distintos regímenes de tratamiento (IFN en monoterapia o en combinación con RBV) sólo se detecta en el 2% de los pacientes (107). Un estudio reciente detectó RNA-VHC en 19/20 muestras de tejido hepático tras RVS y en 13/20 células mononucleares de sangre periférica (CMSP). Se utilizó una determinación de PCR en tiempo-real. Las biopsias se tomaron entre 8-117 meses tras alcanzar RVS, lo que apoya que la persistencia del VHC no se relaciona con el tiempo transcurrido desde el final del tratamiento (108). A diferencia de estos datos Maylin y cols sólo detectaron RNA-VHC en tejido hepático a 2/114 pacientes con RVS (se tomaron las biopsias entre 1-6 años tras finalizar el tratamiento) y no se detectó RNA-VHC en las CMSP. Se utilizó un método de TMA (109). La diferencia entre estos estudios podría deberse al uso de distintos métodos de determinación del RNA-VHC, distintas formas de preservar y mantener las muestras, los intervalos de tiempo entre la extracción y las determinaciones. No obstante, en ambos estudios se apreció una mejoría histológica en las muestras hepáticas y una normalización mantenida de las enzimas hepáticas, por lo que aunque la replicación viral en el hígado y las CMSP pueden mantenerse años después de finalizar el tratamiento antiviral, la recidiva virológica tardía tras la RVS es rara. Por tanto parece que la persistencia y determinación del VHC en tejido hepático y en CMSP tienen poca utilidad clínica. Se desconoce si la persistencia de VHC tras la RVS podría tener capacidad infectiva en humanos, como se ha demostrado *in vitro*, aunque hasta la fecha no se conoce ningún caso comunicado en humanos (110).

En pacientes con compromiso del sistema inmune (trasplantados, enfermos renales crónicos, tratamientos inmunosupresores e infecciones por VIH) que tienen RVS no se han demostrado mayores tasas de recidiva virológica tardía, siendo los datos comparables a los inmunocompetentes (111).

Los títulos de anticuerpos anti-VHC son una característica de infección activa por el VHC. Distintos estudios analizaron los cambios en los títulos de anticuerpos anti-VHC tras la RVS, apreciando un descenso a largo plazo (4 años de media) en los títulos de anticuerpos dirigidos contra las proteínas no estructurales del virus (NS3, NS4 y NS5), mientras que los anticuerpos dirigidos contra las proteínas del core se mantenían fuertemente positivos. Las proteínas no estructurales se asocian a replicación viral y estimulan la respuesta inmune humoral que tiene una vida media corta, por lo que sus valores descienden una vez se alcanza la RVS (112). Por tanto el descenso de los títulos de anticuerpos anti-VHC se relacionan indirectamente con la erradicación de la infección tras la RVS. Sin embargo, la negativización de los mismos a largo plazo es poco frecuente (113).

#### **1.7.2. Durabilidad de la respuesta virológica sostenida:**

La durabilidad de la respuesta después de los 6 meses de haber finalizado el tratamiento es una cuestión crucial sobre la eficacia real de la terapia antiviral en la HCC. Generalmente, los pacientes que alcanzan RVS tras el tratamiento se consideran curados de la infección viral. Sin embargo no está claro el significado clínico de la detección del RNA-VHC en CMSP y/o en tejido hepático, si bien podría reflejar el aclaramiento prolongado de los residuos virales en estos compartimentos (111). Muchos son los estudios que han evaluado la persistencia de la RVS a largo plazo, siendo las cifras de recidiva virológica tardía bajas, cuando se analizan todos estos estudios de forma conjunta en torno al 3% (Tabla 1), a pesar de la disparidad entre los distintos estudios (edad, sexo, genotipo, histología previa, terapia y dosis y tiempo de seguimiento clínico). Sólo algunos estudios puntuales han mostrado cifras superiores (114). En la serie de Pham y cols 15/17 (88%) de los pacientes con RVS presentaron niveles de RNA-VHC detectables cuando se utilizó una técnica de elevada sensibilidad, que habían pasado desapercibida para la técnica habitual (menos sensible) (115). En estudios más recientes con mayor número de pacientes, las cifras de recidiva virológica tardía son muy bajas, oscilando según las series entre el 0-4% (109). George y cols en

150 pacientes con RVS detectaron RNA-VHC durante el seguimiento a 9 pacientes, utilizando un método de TMA (cuyo límite de detección es <5,3 UI/mL) en una única medida en suero que no se confirmó en determinaciones posteriores en ninguno de ellos (116).

Todo indica que la mayor sensibilidad de los nuevos métodos de detección del RNA viral puede haber contribuido a una disminución de la recaída virológica tardía, pudiéndose afirmar que la RVS es duradera e indica erradicación de la infección viral.

Tabla 1: Durabilidad del RNA-VHC indetectable tras la respuesta virológica sostenida.

<b>Autor (año publicación)</b>	<b>Pacientes (n)</b>	<b>Periodo de seguimiento (años)</b>	<b>RNA-VHC detectable n (%)</b>
<b>Marcellin (1997)</b>	<b>80</b>	<b>4</b>	<b>3 (4)</b>
<b>Veldt (2004)</b>	<b>286</b>	<b>4,9</b>	<b>12 (4)</b>
<b>Formann (2006)</b>	<b>187</b>	<b>2,4</b>	<b>0 (0)</b>
<b>Desmond (2006)</b>	<b>147</b>	<b>2,3</b>	<b>1 (0,7)</b>
<b>Lindsay (2008)</b>	<b>366</b>	<b>4,8</b>	<b>4 (1)</b>
<b>Maylin (2008)</b>	<b>344</b>	<b>3,3</b>	<b>0 (0)</b>
<b>George (2009)</b>	<b>147</b>	<b>5,4</b>	<b>0 (0)</b>

### **1.7.3. Consecuencias clínicas de la Respuesta Virológica Sostenida:**

Diversos estudios muestran mejoría del pronóstico en pacientes con RVS tras terapia antiviral, asociándose con cambios analíticos e histológicos, así como una disminución de las complicaciones y la mortalidad en pacientes cirróticos, frente a los pacientes sin respuesta al tratamiento.

### **1.7.3.1. Bioquímica:**

Los pacientes con RVS muestran en su seguimiento una remisión bioquímica de la actividad de la enfermedad, siendo los valores de AST y ALT medios significativamente menores tras el tratamiento en comparación con los valores pretratamiento (117, 118). Además, estos datos se mantienen a largo plazo. De persistir hipertransaminasemia tras alcanzar la RVS es obligado descartar enfermedad hepática concomitante (116). Esta mejoría y su mantenimiento a largo plazo también se ha demostrado en pacientes cirróticos, así como un descenso de los valores de fosfatasa alcalina, GGT y aumento de niveles de plaquetas (109, 119).

### **1.7.3.2. Histología hepática:**

Los efectos beneficiosos de la RVS sobre la histología hepática tras el tratamiento con IFN han sido ampliamente estudiados. Se ha demostrado una mejoría de la necroinflamación, fibrosis y esteatosis en biopsias hepáticas post-tratamiento de pacientes con RVS. Sin embargo la normalización de la histología hepática es menos frecuente.

Los cambios histológicos están estrechamente ligados con el tiempo que transcurre entre el fin del tratamiento y la realización de la biopsia hepática post-terapéutica. Así, en pacientes sometidos a monoterapia con IFN, en el estudio comparativo de biopsias entre 6 meses y un año post-terapia, se aprecia una reducción significativa de la necrosis periportal e inflamación portal, sin cambios significativos en la fibrosis (120). Estos datos se confirman en estudios posteriores en los que se utilizan los regímenes de tratamiento que fueron apareciendo progresivamente (121-123). La mejoría más llamativa se aprecia en la hepatitis periportal e inflamación portal, que alcanza valores del 94% y del 82% respectivamente, siendo menor la mejoría de la necrosis (69%) tras seguimientos histológicos a largo plazo (5 años de media) (116). La proporción de pacientes que mejoran en las puntuaciones de necro-inflamación se correlacionan con el tiempo transcurrido entre la finalización del tratamiento y la toma de la biopsia hepática, es decir, con la duración y mantenimiento de la viremia indetectable. La mejoría

histológica muestra un patrón lento, gradual y progresivo en el tiempo, oscilando entre el 57% en biopsias tomadas en periodos inferiores al año de finalizar el tratamiento hasta el 89% cuando se toman tras periodos medios superiores a los tres años (109, 121, 122).

La tasa de progresión de la fibrosis hepática se reduce en aquellos que alcanzan RVS tras el tratamiento, incluso algunos estudios han demostrado la regresión de la fibrosis, siendo la RVS una variable independiente asociada con la ausencia de fibrosis hepática significativa en las biopsias tras tratamiento (121, 123). Varios estudios han demostrado la mejoría de la fibrosis hepática tras alcanzar RVS, sin embargo esta mejoría no es inmediata puesto que la eliminación del tejido fibrótico es un proceso lento que puede durar años. Cuando se comparan los resultados de estos datos a lo largo del tiempo se confirma que la regresión de la fibrosis aumenta con el tiempo tras la toma de biopsias después de finalizar el tratamiento. Se describen mejorías del 29%, 44%, 59% y 82% en biopsias tomadas tras una media de 1,6 años, 2,5 años, 3,7 años y 5,2 años respectivamente en comparación con la biopsias pretratamiento (116) (Tabla 2). El beneficio histológico es significativamente mayor cuando se administra tratamiento combinado (IFN-RBV) frente a la administración de IFN en monoterapia (123).

Tabla 2: Cambios en la fibrosis hepática en pacientes con hepatitis crónica C y respuesta virológica sostenida.

<b>Autor</b>	<b>Nº casos</b>	<b>Mejora (%)</b>	<b>Estable (%)</b>	<b>Empeoramiento (%)</b>	<b>Intervalo biopsias</b>
<b>Shiratori 2000</b>	<b>183</b>	<b>59</b>	<b>40</b>	<b>1</b>	<b>3,7 años</b>
<b>Toccaceli 2003</b>	<b>66</b>	<b>44</b>	<b>56</b>	<b>0</b>	<b>36-73 meses</b>
<b>Poynard 2002</b>	<b>1094</b>	<b>25</b>	<b>68</b>	<b>7</b>	<b>2 años</b>
<b>Veldt 2004</b>	<b>286</b>	<b>29</b>	<b>65</b>	<b>5</b>	<b>1,6 años</b>
<b>Maylin 2008</b>	<b>126</b>	<b>55</b>	<b>35</b>	<b>12</b>	<b>1-10 años</b>
<b>George 2009</b>	<b>39</b>	<b>80</b>	<b>16</b>	<b>4</b>	<b>5 años</b>

La posibilidad de regresión de la cirrosis hepática ha sido y es motivo de debate en la actualidad. La base científica para la regresión de la cirrosis puede justificarse por la biología de la respuesta hepática a la cicatrización de heridas. La fibrosis representa un equilibrio entre la matriz extracelular hepática (formación de cicatriz) y degradación de matriz patológica en la que las células estrelladas hepáticas (miofibroblastos quiescentes) y los inhibidores de la metaloproteinasas de la matriz desempeñan papeles críticos; las células estrelladas aumentan la formación de la cicatriz y la producción de matriz mientras que los inhibidores tisulares de metaloproteinasas de matriz (TIMP) coordinan la degradación de la matriz y disminuyen la activación de las células estrelladas. Con la regresión de la fibrosis, los niveles de TIMP se reducen junto al aclaramiento, tras la apoptosis, de las células estrelladas activadas. En periodos que no hay daño hepático (en estudios con animales), algunos depósitos de fibrosis no regresan, especialmente si la matriz de colágeno es muy reticulada o si el tejido contiene bandas gruesas de colágeno. Esto podría explicar por qué no sería reversible la cirrosis en

algunos pacientes (124). Debemos tener en cuenta que la regresión de la cirrosis es un diagnóstico histológico basado en la toma de biopsias hepáticas desde un estadio cirrótico a uno no-cirrótico, por lo que la presencia o ausencia de cirrosis determinada por una única muestra puede no ser fiable, incluida la posibilidad de errores de muestreo debido a que la distribución de la fibrosis es heterogénea y a la variabilidad interobservador. Además la regresión de la fibrosis no tiene porqué asociar regresión de otras alteraciones presentes en el hígado cirrótico, como la distorsión de la arquitectura y la alteración en la vascularización hepática, que podrían no ser valoradas con exactitud con las pequeñas agujas de biopsia (125).

Sin embargo varios estudios, incluyendo un metaanálisis, en los que se comparan biopsias hepáticas antes y después del tratamiento antiviral demuestran que la regresión de la cirrosis puede ocurrir en algunos cirróticos (121, 126), siendo la regresión a estadios de fibrosis F3 lo más frecuente y la regresión a estadios menores de fibrosis más rara (109, 127, 128) (Tabla 3). Destacar que estos estudios utilizan distintos intervalos de tiempo entre las biopsias y distintos criterios. Además el intervalo entre la finalización del tratamiento y la toma de la segunda biopsia suele ser corto, por lo que es posible que esta regresión de la cirrosis pueda ir aumentando progresivamente con el tiempo y mejorando las tasas de reversibilidad en pacientes con RVS. Se ha observado además como la regresión de la cirrosis se relaciona estrechamente con alcanzar RVS y parece que esto es más frecuente en pacientes más jóvenes, lo que sugiere que estadios más precoces de cirrosis tienen mayor posibilidad de regresar que cirrosis de mayor tiempo de evolución y por tanto más establecida (123, 126).

Tabla 3: Regresión de la cirrosis hepática (mediante biopsia hepática) en pacientes con respuesta virológica sostenida.

Autor	Nº F4 basal	Regresión de la fibrosis hepática n (%)				Intervalo biopsias
		F3	F2	F1	F0	
Shiratori 2000	24	4 (16)	7 (29)	0		3,7 años
Poynard 2002	153	23 (15)	26 (17)	23 (15)	3 (2)	2 años
Camma 2004	198	48 (24)	-	19 (10)	0	24 meses
Pol 2004	64	-	5 (8)	-	-	4,6 años
Mallet 2008	96	9 (10)	10 (10)	7 (7)	1 (1)	17 meses
Maylin 2008	14	6 (43)	2 (14)	1 (7)	0	1-10 años

### 1.7.3.3. Eventos clínicos:

Los pacientes con HCC se mantienen asintomáticos o con mínimos síntomas, como fatiga y debilidad, hasta estadios avanzados de la enfermedad. Sin embargo estudios que utilizan cuestionarios validados, demuestran que los pacientes con HCC tienen peores resultados en los cuestionarios de calidad de vida, tanto en las puntuaciones físicas, sexuales como mentales. Estos resultados son peores en cirróticos y aquellos con HCC en estadio no cirrótico frente a los que alcanzan RVS, y son independientes del valor de la ALT, siendo el único determinante del resultado el estadio de la hepatitis crónica (129).

Más importante es la mejoría clínica que se asocia a la RVS en pacientes con fibrosis avanzada o cirrosis compensada, principalmente cuando la respuesta al tratamiento se

asocia a una regresión de la cirrosis hepática (130, 131). En estudios que realizan seguimiento a largo plazo (entre 2 y 8 años de media) se ha demostrado una reducción significativa en la aparición de eventos clínicos (tabla 4) como son el desarrollo de ascitis, hemorragia por varices esofágicas, ictericia y encefalopatía hepática en el grupo que alcanza RVS frente a aquellos que no responden al tratamiento, aunque en una serie de 192 pacientes con RVS (con fibrosis avanzada o cirrosis), 4 desarrollan un episodio de descompensación tras un seguimiento medio de 8 años (130) y en otra de 156 cirróticos con RVS, 6 de ellos desarrollan un episodio de descompensación tras un seguimiento medio de tres años. Este último grupo incluyó todos los pacientes con cirrosis y con peor Child-Pugh (132). El riesgo de desarrollar CHC disminuye, aunque no desaparece a pesar de negativizar la viremia, tras periodos variables de seguimiento y parece que el riesgo es menor cuanto mayor es el tiempo de evolución tras alcanzar la RVS, variando la probabilidad de desarrollarlo según la serie (119, 131, 133). Shiratori y cols observaron en cirróticos tratados con IF tras un seguimiento medio de 8 años, una incidencia anual de desarrollo de CHC del 2,5% en los que alcanzaron RVS frente al 5% en el grupo no respondedor (NR) (133). Estos datos coinciden con los procedentes de otro metaanálisis reciente, donde los pacientes cirróticos con RVS tenían una reducción del riesgo de CHC en comparación con los no respondedores (RR, 0,35, IC 95%, desde 0,26 hasta 0,46) (134). Estos resultados subrayan que el riesgo de desarrollar CHC persiste y es necesario continuar el despistaje periódico con pruebas de imagen y alfafetoproteína en pacientes con HCC y fibrosis avanzada incluso tras alcanzar RVS.

Tabla 4: Resultados clínicos en pacientes cirróticos según la respuesta al tratamiento.

Autor	Nº Casos	Seguimiento (años)	Respuesta Viroológica Sostenida			No Respondedores		
			Descompensación	CHC	Éxito CH	Descompensación	CHC	Éxito CH
<b>Veldt 2007</b>	<b>142/337</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>42</b>	<b>32</b>	<b>34</b>
<b>Bruno 2007</b>	<b>124/759</b>	<b>8</b>	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>2</b>	<b>107</b>	<b>122</b>	<b>83</b>
<b>Fernández 2009</b>	<b>156/352</b>	<b>3</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>2</b>	<b>72</b>	<b>26</b>	<b>27</b>
<b>Van der Meer 2012</b>	<b>192/338</b>	<b>8</b>	<b>4</b>	<b>7</b>	<b>3</b>	<b>111</b>	<b>76</b>	<b>103</b>

CHC: carcinoma hepatocelular. CH: causa hepática.

Un metaanálisis europeo analiza la supervivencia a largo plazo, en pacientes con infección crónica por VHC, tras 5 años de seguimiento. Los datos son comparables entre pacientes con RVS y la población general. Esto también ocurre en pacientes con aclaramiento espontáneo de la hepatitis C. Destacar que este estudio sólo incluyó 15 pacientes cirróticos de un total de 286 (135). Estudios realizados con pacientes en estadio cirrótico comparando los respondedores frente a no respondedores encuentran una reducción significativa de la mortalidad de causa hepática. Van der Meer y cols además encuentran una reducción significativa no solo de la mortalidad de causa hepática, sino de la mortalidad por otras causas en pacientes con fibrosis avanzada y RVS frente a no respondedores, obteniendo una reducción del riesgo de 0,26 (HR 0,26, 95% IC, 0,14-0,49,  $p < ,001$ ) de la mortalidad global y del 0,06 (HR, 0,06, 95% CI, 0,02-0,19;  $P < ,001$ ) de la mortalidad de causa hepática en aquellos con RVS (119). Con la introducción de la triple terapia se estima una reducción más significativa de estas tasas de mortalidad asociadas a una mayor tasa de RVS. Deuffic-Burban y cols han creado un modelo para predecir la reducción en la incidencia de cirrosis por VHC y su mortalidad en varios países europeos teniendo en cuenta el impacto del tratamiento antiviral, tanto el tratamiento combinado como la triple terapia, hasta el año 2021. Desde 2002 al 2011

estiman una reducción de la incidencia acumulada de cirrosis del 7,1% y de la mortalidad del 3,4% con terapia combinada. Tras la introducción de la triple terapia se estima una mayor reducción, dado que las tasas de RVS son mayores, en la cirrosis del 17,7% y en la mortalidad del 9,7% desde el 2012 al 2021 (136).



## **2. JUSTIFICACIÓN:**

La infección por VHC es muy prevalente en el mundo y supone la principal causa de hepatitis crónica, desarrollo de cirrosis, enfermedad hepática en fase terminal, CHC y trasplante hepático en países desarrollados, lo que supone un problema de salud pública en el momento actual.

En los últimos 20 años hemos asistido a una evolución del tratamiento antiviral desde la utilización inicial de IFN en monoterapia, la combinación con RBV y posteriormente, la combinación de IFN pegilado con RBV hasta la reciente aparición de los inhibidores de la proteasa, con una mejoría progresiva de las tasas de respuesta. El objetivo del tratamiento es la eliminación del RNA-VHC del suero, lo que se ha asociado con una mejoría clínica, de los parámetros de laboratorio e histológicos en pacientes con HCC, evitando la progresión de la misma a cirrosis, enfermedad hepática terminal, desarrollo de CHC y muerte por enfermedad hepática. En pacientes cirróticos también se han constatado estos beneficios, observando mejoría en la histología, reducción de la incidencia de descompensaciones clínicas, CHC y mejora de la supervivencia global. No obstante, estos cambios conllevan años e incluso décadas y los estudios publicados hasta la actualidad se limitan a periodos de seguimiento relativamente cortos (nunca superiores a los 10 años), siendo la evaluación histológica a largo plazo limitada, tanto por los riesgos asociados a la biopsia hepática como por su realización tras cortos periodos después de finalizar el seguimiento.

La aparición de la ET, método no invasivo para evaluar la lesión hepática, nos permite realizar un seguimiento a largo plazo de pacientes que han recibido tratamiento antiviral. Los datos publicados hasta la actualidad se limitan a seguimientos a corto plazo y con un número limitado de pacientes. Por este motivo realizamos el siguiente estudio, donde evaluamos la historia natural de la HCC tras recibir tratamiento combinado con IFN y RBV durante un periodo superior a 10 años utilizando la ET como método para estimar la fibrosis hepática.



### **3. OBJETIVOS:**

1. Evaluar la influencia que la respuesta al tratamiento combinado tiene sobre la evolución clínica de la hepatopatía por VHC.
  - Desarrollo de cirrosis hepática
  - Desarrollo de hipertensión portal y complicaciones de la misma: ascitis, varices esofágicas, hemorragia digestiva por varices esofágicas y encefalopatía hepática.
  - Desarrollo de CHC.
  - Mortalidad.
2. Demostrar mediante la utilización de la ET, la evolución de la fibrosis hepática en el periodo estudiado en los pacientes con RVS y NR.
3. Determinar la durabilidad de la RVS a largo plazo (13 años) así como el mantenimiento de los anticuerpos anti-VHC.



## **4. PACIENTES Y MÉTODO:**

### **4.1. Diseño del estudio:**

Estudio observacional, analítico, de cohorte histórica retrospectiva.

### **4.2. Población de pacientes:**

Se han incluido pacientes diagnosticados de HCC con confirmación histológica que recibieron tratamiento antiviral con IFN y RBV entre los años 1996 y 2000. Se ha realizado una recogida de datos clínicos, histológicos y analíticos retrospectivamente. Entre septiembre del 2009 y hasta enero del 2012 se realizó la valoración clínica y analítica final, además de la medida de fibrosis hepática mediante ET.

El estudio ha incluido la población de referencia de la Unidad de Hepatología del hospital Virgen Macarena de Sevilla.

Tamaño de la muestra: Se ha realizado un muestreo intencional o de conveniencia. Se han incluido todos los pacientes con HCC que recibieron tratamiento antiviral con IFN y RBV durante los años 1996 y 2000 (n=182), según las recomendaciones existentes durante ese periodo. Toda esta población era accesible con los recursos disponibles.

### **4.3. Criterios de elegibilidad:**

#### **4.3.1. Criterios de inclusión de pacientes:**

- Haber recibido tratamiento combinado previo con IFN y RBV durante los años 1996-2000.
- Pacientes con hepatopatía crónica por VHC con confirmación histológica.

#### **4.3.2. Criterios de exclusión de pacientes:**

- Coinfección por VHB o VIH.

- Abuso de la ingesta enólica o adicción a drogas por vía parenteral.
- Hepatopatía de etiología no vírica (autoinmune, tóxica, metabólica)
- Descompensación de la hepatopatía en el momento de la realización de la ET.

#### **4.3.3. Comité ético y consentimiento informado:**

- El estudio ha sido aprobado por el comité de ética de investigación del Hospital Universitario Virgen Macarena.
- Todos los pacientes recibieron el consentimiento informado y lo firmaron antes de iniciar los procedimientos específicos del protocolo.

#### **4.4. Estudio retrospectivo:**

##### **4.4.1. Datos demográficos y epidemiológicos.**

- Edad expresada en años.
- Edad en el momento del diagnóstico de la hepatitis C expresada en años.
- La edad en el momento de inicio del tratamiento combinado expresada en años.
- Sexo expresado como hombre o mujer.
- Vía de contagio de la hepatitis C expresada como vía transfusional, UDVP o desconocida.

##### **4.4.2. Estudio de la infección por virus de la hepatitis C.**

- Genotipo del VHC expresado como 1 o distinto de 1 (2, 3 o 4).
- Carga viral antes de iniciar el tratamiento: considerándose la cifra de  $10^6$  UI/mL el límite entre alta y baja.

#### **4.4.3. Estudio histológico.**

- Fibrosis previa al inicio del tratamiento determinada mediante biopsia hepática. Se utilizó para la estadificación de la fibrosis el índice de actividad histológica de Knodell que está compuesto por cuatro ítems que reflejan necroinflamación y fibrosis.

#### **4.4.4. Datos del tratamiento antiviral.**

- La realización de tratamientos para la HCC previos y si hubo respuesta al mismo o no.
- Dosis total de IFN recibida durante el tratamiento. El IFN se administraba por vía subcutánea, a dosis de 3 MUI o 5 MUI tres veces por semana.
- Dosis total de RBV recibida durante el tratamiento: la RBV se administró ajustada al peso; los <75 kg recibían 1000 mg/día y los  $\geq 75$  kg 1200 mg al día. En los pacientes tratados antes de 1998 se administró por uso compasivo, puesto que hasta ese momento no se había aprobado la indicación de RBV para el tratamiento de la HCC.
- Duración del tratamiento expresada en meses.
- Respuesta a tratamiento combinado con IFN y RBV al finalizar el mismo y si hubo RVS. Se define la RVS como la ausencia de RNA-VHC detectable 24 semanas tras el fin del tratamiento.

#### **4.4.5. Seguimiento clínico de los pacientes.**

##### **4.4.5.1. Evolución clínica:**

- Descompensación o fallo hepático, definido como paciente que presenta ascitis, desarrollo de varices, hemorragia digestiva de origen varicoso o encefalopatía hepática, en algún momento de la

evolución desde que finalizó el tratamiento hasta la realización de la última evaluación clínica.

- Desarrollo de CHC, diagnosticado mediante técnicas de imagen dinámicas (tomografía computerizada dinámica o resonancia nuclear magnética, que muestren el comportamiento vascular típico de estos tumores, con captación precoz en fase arterial y lavado en fase venosa) o con confirmación histológica.
- Defunción por enfermedad hepática o por otras causas no relacionadas con la hepatopatía.
- Trasplante hepático.

**4.4.5.2. Datos analíticos:**

- Se incluyen los anticuerpos anti-VHC y la determinación del RNA-VHC.

**4.4.5.3. Ecografía abdomen:**

- Se analizó si existía alguna alteración clínica o analítica que así lo hicieran recomendar. Se evaluó la presencia de datos ecográficos de cirrosis hepática o hipertensión portal: colaterales portocava en el hilio hepático, aumento del diámetro de la vena porta en el hilio hepático (mayor de 13 mm), dilatación de la vena esplénica (mayor de 12 mm), esplenomegalia, recanalización de la vena umbilical, disminución de la velocidad del flujo portal, ascitis, anomalías de la ecoestructura, alteraciones en la morfología y superficie hepática irregular.

**4.4.5.4. Endoscopia digestiva alta:**

- Si existían signos clínicos, analíticos y/o ecográficos de hipertensión portal.

#### **4.5. Estudio prospectivo:**

##### **4.5.1. Valoración clínica**

- Analizando la presencia de descompensación o complicaciones derivadas de la enfermedad hepática.

##### **4.5.2. Valoración analítica**

- De niveles de ALT, anticuerpos anti-VHC y la determinación del RNA-VHC.

##### **4.5.3. Valoración no invasiva de la fibrosis mediante elastografía transitoria.**

#### **4.6. Métodos analíticos**

##### **4.6.1. Determinación de anticuerpos anti-VHC:**

- Inmunoensayo indirecto tipo sándwich de doble lavado, de diagnóstico in vitro para la determinación cualitativa de anticuerpos IgG (inmunoglobulina G) frente al VHC en suero o plasma humano con el sistema ADVIA Cetaur®. Este sistema utiliza dos antígenos de VHC codificados recombinantes (c200 y NS5) y un péptido del core del VHC codificado sintético (c22). Las muestras con un valor inferior a 0,80 se consideran no reactivas y las superiores a 1,00 se consideran reactivas. El valor es indeterminado cuando el resultado es igual o superior a 0,80 e inferior a 1,00 y se repite la muestra por duplicado. Si dos de los tres resultados son iguales o inferiores a 0,80 se considera no reactiva, si dos de los tres resultados son iguales o superiores a 1,00 se considera reactivo y si dos de los tres resultados están entre 0,80 y 1,00 deben realizarse análisis complementarios. El método tiene una especificidad del 99,9% y sensibilidad del 98%.

#### 4.6.2. Niveles de RNA-VHC séricos

- En el momento de la realización de la ET. Se utilizó para su determinación la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®. Es una prueba de amplificación in vitro del ácido nucleico para la determinación cuantitativa de RNA del VHC en plasma o suero humano, en el instrumento COBAS® AmpliPrep para el procesamiento automatizado de la muestra y el analizador COBAS® TaqMan® o el analizador COBAS® TaqMan® 48 para la amplificación y detección automatizadas. La detección y determinación cuantitativa de RNA del HCV y ADN del HBV (mediante amplificación de ácidos nucleicos por la PCR) proporciona una medida de la viremia activa. Se basa en tres procesos principales: 1. Preparación de la muestra para extraer el RNA del VHC, 2. Transcripción reversa del RNA objetivo para generar ADN complementario (ADNc) y, 3. Amplificación mediante PCR del ADNc objetivo y detección simultánea (PCR en tiempo real) de una sonda de detección oligonucleótida doblemente marcada y escindida específica del objetivo. Determina concentraciones superiores a 15 UI/mL e inferiores a 69 millones UI/mL.

#### 4.7. Elastografía transitoria

- Evaluación de la lesión hepática mediante la ET, utilizando el FibroScan® (Echosens, Paris, Francia). Técnica basada en la ecografía que requiere la recepción de señales ultrasónicas de pulso-eco para determinar la rigidez hepática. La sonda con el transductor de ultrasonidos se aplica sobre lóbulo hepático derecho. Esta emite una señal de baja amplitud al hígado, que a su vez genera una onda de impulso elástico que se propaga a través del tejido hepático. El ultrasonido pulso-eco permite medir la velocidad de propagación de la onda, en kPa, que se relaciona con el grado de rigidez del hígado. Se considera un resultado fiable cuando se obtienen al menos 10 mediciones válidas y más del

60% de tasa de éxito de todas las medidas obtenidas. El valor que resulta de calcular la mediana de las 10 determinaciones es el que se utiliza para establecer la rigidez del hígado que es proporcional al grado o estadio de fibrosis. Además el rango intercuartílico (diferencia entre percentil 25 y 75 de las exploraciones realizadas) nos da una buena idea acerca de la dispersión de los valores, debe ser inferior al 30% del valor mediano. Se han utilizado los valores de corte propuestos por Tsochatzis y cols (56); F2 7,6-10,8, F3 10,9-15,2 y F4 mayor o igual a 15,3 kPa. Todos los estudios fueron realizados por el mismo facultativo específicamente entrenado para su realización. Los pacientes tenían entre 2-3 horas de ayuno previo a su realización.

#### **4.8. Comparación entre no respondedores y aquellos con respuesta virológica sostenida**

- Se analizan y comparan tanto las variables analizadas en el estudio retrospectivo como en el prospectivo, entre ambos grupos de respuesta al tratamiento combinado.

#### **4.9. Análisis estadístico**

##### **4.9.1. Análisis exploratorio de datos:**

- En primer lugar se realizó una exploración de los datos, generando estadísticos de resumen y representaciones gráficas para todos los casos y de forma separada, para grupos de casos. Este procedimiento se ha utilizado para identificar valores atípicos y caracterizar diferencias entre subpoblaciones (grupos de casos), y puede mostrar la existencia de valores inusuales o extremos en las observaciones.

##### **4.9.2. Análisis descriptivo.**

- Las variables numéricas se resumen con medias y desviaciones típicas o, en caso de distribuciones muy asimétricas, medianas y percentiles ( $P_{25}$  y  $P_{75}$ ). Las variables no numéricas se expresan con tablas de frecuencias y porcentajes. Estas medidas se calculan

globalmente y para grupos de casos. La descripción de la muestra se ha completado con distintas representaciones gráficas según el tipo de información (numérica/ no numérica). Se han obtenido estimadores puntuales e intervalos de confianza al 95% para los diferentes estadísticos.

#### **4.9.3. Análisis Inferencial.**

- Para medir la relación lineal entre pares de variables numéricas, como el tiempo de evolución de la hepatopatía, carga viral, dosis de IFN y RBV y datos de fibrosis (normalmente distribuidas) se han calculado coeficientes de correlación de Pearson, o Rho-Spearman según criterio de aplicación. Se ha aplicado el test de correlación o independencia para ver la significación de la asociación. Este análisis se ha realizado tanto en la muestra global como en los subgrupos definidos.

Para valorar la relación entre dos variables de tipo cualitativo (sexo, vía de contagio, genotipo, presencia de RVS y complicaciones clínicas), se han realizado tablas de contingencias y se ha aplicado el test de la Chi-cuadrado, Chi-cuadrado con corrección de continuidad o test exacto de Fisher (para tablas 2x2 poco pobladas). Los resultados significativos de estas pruebas de hipótesis se complementaron con intervalos de confianza al 95% para diferencias de proporciones.

Para analizar la relación entre una variable cualitativa dicotómica y una cuantitativa como la presencia de RVS (comparación de medias entre 2 grupos) se ha realizado el test de la t de Student una vez validado los requisitos de aleatoriedad, independencia, normalidad e igualdad de varianza. En el caso de no cumplirse el requisito de

igualdad de varianza (test de Levene) se ha realizado la t de Student con la corrección de Welch. En caso de no cumplirse el requisito de normalidad (prueba de Kolmogorov-Smirnov o Shapiro-Wilis en función de los tamaños de los subgrupos) se ha realizado la prueba U- Mann Withney. En el caso de detectarse diferencias significativas, se han determinado intervalos de confianza para diferencias de medias al 95% que cuantifiquen dichas diferencias.

Para la comparación de variables numéricas entre más de dos grupos (variable cualitativa Politémica), una vez comprobados los supuestos de aleatoriedad, independencia de las observaciones, homocedasticidad y normalidad de las distribuciones, se ha realizado la prueba *ANOVA* (análisis de la varianza) o en su defecto *Kruskal-Wallis*. En caso de encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes subgrupos comparados se han efectuado pruebas de comparación “a posteriori” (prueba de Bonferroni o U de Mann-Withney según criterios de aplicación) con el nivel de significación corregido.

#### **4.9.4. Análisis de supervivencias.**

- Se ha efectuado un análisis de supervivencia univariado mediante curvas de Kaplan-Meier, en el que la variable dependiente (tiempo de supervivencia) se trató de predecir a partir de la variable independiente principal del estudio: respuesta al tratamiento recibido. Se han obtenido las probabilidades de supervivencia, la media y mediana de supervivencia y los cuartiles. Se han generado estadísticos separados por grupo de estudio y se han representado las funciones de supervivencia para cada uno de estos grupos.

#### **4.9.5. Test Log-Rank.**

- El test Log-Rank se ha utilizado para comparar la igualdad de las distribuciones del tiempo de supervivencia entre los diferentes grupos (RVS prolongada y NR).

#### **4.9.6. Regresión de Cox.**

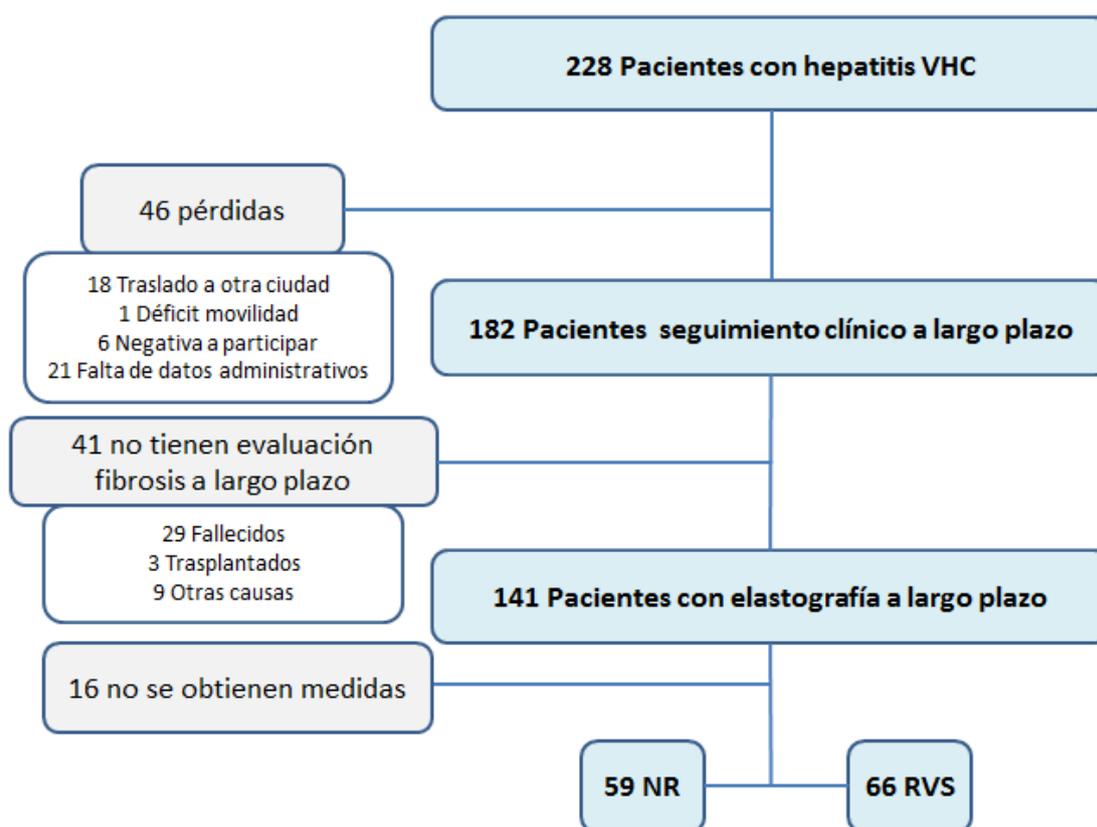
- La regresión de Cox (riesgo proporcional) se ha utilizado para crear modelos de tiempos de supervivencia incluyendo hipotéticas variables predictoras (covariables) tanto categóricas como continuas. Para las variables seleccionadas por el mismo, se calcularon hazard ratio e intervalos de confianza al 95%, una vez validados los requisitos de aplicación. En caso de no verificarse dichos requisitos se realizó un modelo de Cox tiempo-dependiente (19,20). Realizamos una regresión de riesgos proporcionales de Cox ajustando por la edad al inicio del tratamiento, sexo, vía de contagio (que se agrupó en conocida y desconocida), carga viral pretratamiento, respuesta a tratamiento previo, fibrosis pretratamiento, tiempo desde el diagnóstico hasta el inicio del tratamiento, dosis de RBV y respuesta al tratamiento combinado. Se han desarrollado modelos multivariados para evaluar los factores de riesgo asociados a la mortalidad global, de causa hepática y/o trasplante hepático, mortalidad de causa no hepática, desarrollo de CHC y complicaciones clínicas.

El análisis de los datos se realizó con el paquete estadístico SPSS 22.0 para Windows.

## 5. RESULTADOS:

- Entre 1996 y 2000 fueron tratados 228 pacientes con HCC con IFN y RBV.
- El seguimiento a largo plazo [promedio de 12,6 (2,6) años IC 95% (12,2;12,9)] se ha realizado en 182 pacientes; el resto (46) pierden el seguimiento. Las causas principales fueron el traslado a otras ciudades en 18 pacientes, déficit de movilidad que impidió su valoración en 1, negativa a participar en 6, imposibilidad para establecer contacto por seguimiento en otras ciudades o por ausencia de datos administrativos actualizados para contactar con ellos en 21.
- Tal y como se muestra en la figura 4, el estudio de fibrosis mediante ET se ha realizado en un total de 141 pacientes (77,5%). No se pudo realizar en 41 pacientes porque 29 habían fallecido, 3 habían recibido trasplante hepático y en los 9 restantes no fue posible realizar la exploración.
- Las características basales de dicha población se presentan en la tabla 5 y 6.

Figura 4: Diagrama de sujetos incluidos en el estudio



## 5.1. Estudio retrospectivo

### 5.1.1. Datos demográficos y epidemiológicos:

Los 182 pacientes incluidos en el presente trabajo tenían edades comprendidas entre los 18 y los 66 años en el momento del diagnóstico de la infección, siendo el promedio de la misma 42,1 (11,9) años, IC 95% (40,3;43,8). El 58,2% (n= 106) de la muestra eran hombres. La edad media al diagnóstico en los hombres fue de 38,7 años (11,2) IC 95% (36,5;40,8) y en las mujeres de 46,9 años (11,4) IC 95% (44,3;49,5). El promedio de edad al inicio del tratamiento fue de 45,5 años (12,1) IC 95% (43,7;47,2) (tabla 5).

Cuando agrupamos la edad al inicio del tratamiento en  $\leq 39$ , de 40-59 y  $\geq 40$  años, observamos que el grupo de edad predominante fue de 40 a 59 años (95 pacientes). El 71,4% de los pacientes estudiados tenían una vía de contagio conocida (43,4% transfusional y el 28,0% UDVP) (tabla 6).

Tabla 5: Variables cuantitativas basales y de tratamiento.

<b>Variables cuantitativas</b>	<b>n</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media (DE)</b>	<b>IC 95%</b>	<b>Mediana (P<sub>25</sub>;P<sub>75</sub>)</b>
<b>Edad al diagnóstico</b>	<b>182</b>	<b>18</b>	<b>66</b>	<b>42,1 (11,9)</b>	<b>(40,3;43,8)</b>	<b>43,5 (33,0;52,2)</b>
<b>Hombres</b>	<b>106</b>	<b>18</b>	<b>64</b>	<b>38,7 (11,2)</b>	<b>(36,5;40,8)</b>	<b>37,0 (29,8;47,3)</b>
<b>Mujeres</b>	<b>76</b>	<b>18</b>	<b>66</b>	<b>46,9 (11,4)</b>	<b>(44,3;49,5)</b>	<b>50,0 (40,5;54,8)</b>
<b>Edad al inicio del tratamiento</b>	<b>182</b>	<b>18</b>	<b>72</b>	<b>45,5 (12,1)</b>	<b>(43,7;47,2)</b>	<b>45,0 (36,0;55,0)</b>
<b>Hombres</b>	<b>106</b>	<b>18</b>	<b>68</b>	<b>42,1 (11,7)</b>	<b>(39,9;44,4)</b>	<b>41,0 (33,7;51,2)</b>
<b>Mujeres</b>	<b>76</b>	<b>22</b>	<b>72</b>	<b>50,1 (11,1)</b>	<b>(47,6;52,6)</b>	<b>53,5 (43,0;57,7)</b>

### 5.1.2. Datos virológicos:

El 96,2% estaban infectados por el genotipo 1 (n=175) el resto por el genotipo 2, 3 y 4. La carga viral pretratamiento fue mayor de  $10^6$  copias en el 30,8% (n=56) (tabla 6).

### 5.1.3. Histología:

Las biopsias pretratamiento, mostraron un grado de fibrosis cuantificado mediante el índice de Knodell de F0-F1 en el 70,9% (n=129) (tabla 6).

#### 5.1.4. Tratamiento antiviral previo:

El 59,9% de los pacientes (n=109) había recibido tratamiento antiviral previo con IFN en monoterapia, de ellos el 54,1% recidivaron tras finalizar el tratamiento (n=59) (tabla 6).

Tabla 6: Variables cualitativas basales.

Variables	n (%)	IC 95%
<b>Sexo</b>		
Hombre	106 (58,2)	(50,8;65,6)
Mujer	76 (41,8)	(34,3;49,2)
<b>Vía contagio</b>		
Transfusional	79 (43,4)	(35,9;50,9)
ADVP	51 (28,0)	(21,2;34,8)
Desconocida	52 (28,6)	(21,7;35,4)
<b>Genotipo</b>		
1	175 (96,2)	(93,1;99,2)
Otros	7 (3,8)	(0,8;6,9)
<b>Carga viral pretratamiento</b>		
>10 <sup>6</sup>	56 (30,8)	(23,8;37,7)
≤10 <sup>6</sup>	126 (69,2)	(62,3;76,2)
<b>Fibrosis pretratamiento</b>		
F0-F1	129 (70,9)	(64,0;77,8)
F2	30 (16,5)	(10,8;22,1)
F3-F4	23 (12,6)	(7,5;17,7)
<b>Tratamiento previo</b>	109 (59,9)	(52,5;67,3)
<b>Respuesta a tratamiento previo</b>		
Recidivante	59 (54,1)	(25,3;39,5)
No respondedor	50 (45,9)	(20,7;34,2)

UDVP: adicción a droga por vía parenteral.

#### 5.1.5. Tratamiento antiviral actual:

En la tabla 7 se muestran las variables cualitativas del tratamiento. Todos los pacientes incluidos recibieron tratamiento combinado con IFN y RBV.

El 16,5% (n=30) recibió IFN durante 24 semanas o menos, el 11,5% (n=21) recibió IFN durante 48 semanas a dosis de 3 MUI tres veces por semana y el 72% (n=131) recibió IFN 48 semanas a dosis de 5 MUI tres veces por semana. El 72,0% (n=131) recibió el 80% o más de la dosis total de RBV. Alcanzaron RVS el 46,7% (n=85).

Tabla 7: Variables cualitativas de tratamiento.

<b>Variables</b>	<b>n (%)</b>	<b>IC 95%</b>
<b>Dosis de IFN</b>		
720 (5 MUI)	131 (72,0)	(65,2;78,8)
432 (3 MUI)	21 (11,5)	(6,6;16,5)
<432	30 (16,5)	(10,8;22,1)
<b>Dosis de RBV</b>		
< 80%	51 (28,0)	(21,2;34,8)
≥ 80%	131 (72,0)	(65,2;78,8)
<b>RVS</b>	85 (46,7)	(39,2;54,2)

IFN: interferón. RBV: ribavirina. RVS: respuesta virológica sostenida.

#### 5.1.6. Evaluación clínica:

En las tablas 8 y 9 se presentan los datos obtenidos tras la evaluación clínica de los pacientes, de los que destacamos:

- Datos ecográficos de cirrosis hepática y/o hipertensión portal: al final del periodo de seguimiento tenían signos ecográficos de cirrosis hepática el 20,3% (37/182), de ellos en las biopsias pretratamiento el 45,9% (17/37), ya presentaban datos de fibrosis avanzada (F3-F4), por tanto el 10,9% (n=20) de los pacientes progresaron a cirrosis hepática e hipertensión portal.

- Complicaciones clínicas: aparecieron en el 14,8% (27/182). Las complicaciones más frecuentes fueron el desarrollo de varices (n=22) y la ascitis (n=18).
- Hepatocarcinoma: se diagnosticó en el 8,2% (15/182).
- Se sometieron a trasplante hepático el 1,6% (3/182).
- La mortalidad global fue del 15,9% (29/182). La mortalidad por causa hepática fue del 6,6% (n=12).
- En la tabla 9 se presentan los tiempos de seguimiento general y hasta la aparición de las principales complicaciones. Los pacientes se sometieron a un seguimiento que osciló entre 1,1 y 16,3 años. El 50% de la muestra tuvo un seguimiento de 13,2 años (P<sub>25</sub>;P<sub>75</sub>) (12,1;14,0).

Tabla 8: Variables cualitativas de evolución de la enfermedad.

<b>Variables</b>	<b>n (%)</b>	<b>IC 95%</b>
<b>Progresión a cirrosis e HTP</b>	<b>20 (10,9)</b>	<b>(6,2;15,8)</b>
<b>Complicaciones clínicas</b>	<b>27 (14,8)</b>	<b>(9,4;20,3)</b>
<b>Ascitis</b>	<b>18 (9,9)</b>	<b>(5,3;14,5)</b>
<b>Varices</b>	<b>22 (12,1)</b>	<b>(7,1;17,1)</b>
<b>Hemorragia varicosa</b>	<b>6 (3,3)</b>	<b>(0,4;6,2)</b>
<b>Encefalopatía</b>	<b>5 (2,7)</b>	<b>(0,9;6,3)</b>
<b>Hepatocarcinoma</b>	<b>15 (8,2)</b>	<b>(4,0;12,5)</b>
<b>Trasplante hepático</b>	<b>3 (1,6)</b>	<b>(0,3;4,7)</b>
<b>Exitus global</b>	<b>29 (15,9)</b>	<b>(10,3;21,5)</b>
<b>Causa hepática</b>	<b>12 (6,6)</b>	<b>(2,7;10,5)</b>
<b>Causa no hepática</b>	<b>17 (9,3)</b>	<b>(4,8;18,8)</b>

HTP: hipertensión portal.

Tabla 9: Tiempo de seguimiento y tiempo hasta la aparición de complicaciones.

	n	Mínimo	Máximo	Media (DE)	IC 95%	Mediana (P <sub>25</sub> ;P <sub>75</sub> )
<b>Tiempo de seguimiento</b>	<b>182</b>	<b>1,1</b>	<b>16,3</b>	<b>12,6 (2,6)</b>	<b>(12,2;12,9)</b>	<b>13,2 (12,1;14,0)</b>
<b>Vivos</b>	<b>153</b>	<b>3,3</b>	<b>16,3</b>	<b>13,2 (1,5)</b>	<b>(12,9;13,4)</b>	<b>13,4 (12,3;14,1)</b>
<b>Fallecen</b>	<b>29</b>	<b>1,1</b>	<b>15,3</b>	<b>9,3 (4,2)</b>	<b>(7,7;10,9)</b>	<b>9,4 (5,9;12,9)</b>
<b>Tiempo hasta descompensación</b>	<b>27</b>	<b>1,0</b>	<b>14,7</b>	<b>8,3 (3,8)</b>	<b>(6,7;9,8)</b>	<b>8,9 (4,4;11,5)</b>
<b>Tiempo hasta CHC</b>	<b>15</b>	<b>0,3</b>	<b>14,3</b>	<b>6,7 (4,3)</b>	<b>(4,3;9,0)</b>	<b>6,0 (4,0;10,9)</b>

CHC: carcinoma hepatocelular.

## 5.2. Estudio prospectivo:

### 5.2.1. Valoración analítica:

- Mantenimiento de la RVS: todos los pacientes con RVS mantuvieron el RNA-VHC negativo a largo plazo (85/85).
- Mantenimiento de los anticuerpos anti-VHC: el 99,5% de los pacientes (n=181) mantuvieron los anticuerpos positivos al final del seguimiento.
- Determinación de la ALT al final del seguimiento: en el 80,8% del total de los pacientes (147/182) se obtuvo una determinación de la ALT al final del seguimiento, en el 48,4% obtuvieron valores de hasta 40 U/L (88/182) y en el 32,4% valores superiores a 40 U/L (59/182).

### 5.2.2. Valoración de la fibrosis mediante elastografía transitoria:

La ET se realizó al 77,5% (n=141). De ellos en el 11,3% (n=16) no se pudieron obtener medidas. En la tabla 10 podemos observar la representación de los distintos estadios de fibrosis, siendo el F0-F1 el más frecuente (48,8%).

Tabla 10: Variables cualitativas de fibrosis hepática a largo plazo.

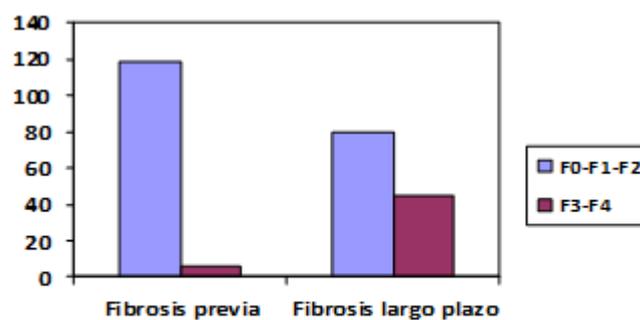
Variables	n (%)	IC 95%
<b>Elastografía hepática</b>	<b>125 (68,7)</b>	<b>(61,7;75,7)</b>
<b>F0-F1</b>	<b>61 (48,8)</b>	<b>(26,4;40,7)</b>
<b>F2</b>	<b>19 (15,2)</b>	<b>(5,7;15,2)</b>
<b>F3</b>	<b>28 (22,4)</b>	<b>(9,9;20,9)</b>
<b>F4</b>	<b>17 (13,6)</b>	<b>(4,8;13,8)</b>

En 125 pacientes del total de la muestra se obtuvo una medida de fibrosis hepática antes (biopsia hepática) y a largo plazo (ET). En la tabla 11 y en la figura 6 podemos observar la evolución de la fibrosis tras finalizar el seguimiento, para ello agrupamos la fibrosis en fibrosis leve o F0-F1-F2 y fibrosis avanzada o cirrosis F3-F4. El 65,5% (n=78) tenían una fibrosis inicial leve que se mantuvo a largo plazo, el 34,5% (n=41) evolucionaron de una fibrosis inicial leve hasta una fibrosis avanzada o cirrosis, el 33,3% (n=2) regresaron a un estadio de fibrosis leve desde un estadio inicial de fibrosis avanzada o cirrosis y el 66,7% (n=4) mantuvieron una fibrosis avanzada o cirrosis.

Tabla 11: Evolución de la fibrosis desde la biopsia inicial hasta la elastografía al final del seguimiento.

Evolución de fibrosis	Fibrosis a largo plazo		Total (n)
	F0-F1-F2	F3-F4	
	n (%)	n (%)	
<b>Fibrosis pretratamiento</b>			
<b>F0-F1-F2</b>	<b>78 (65,5)</b>	<b>41 (34,5)</b>	<b>119</b>
<b>F3-F4</b>	<b>2 (33,3)</b>	<b>4 (66,7)</b>	<b>6</b>

Figura 5: Evolución de la fibrosis desde la biopsia inicial hasta la elastografía al final del seguimiento.



### 5.2.3. Comparación entre no respondedores frente a respondedores:

#### 5.2.3.1. Características basales:

En las tablas 12 y 13 se presentan las características basales de la muestra en función de la respuesta al tratamiento. El promedio de edad al diagnóstico de la hepatitis C fue 44,9 (11,0) años, IC 95% (42,7;47,2) en los NR y 38,9 (12,3) años, IC 95% (36,2;41,5) en los que alcanzaron RVS, siendo significativamente menor en aquellos que alcanzaron RVS. El promedio de edad al inicio del tratamiento en pacientes con RVS fue significativamente menor que en el grupo NR [RVS: 42,5 (12,7) IC 95% (39,7;45,2) y NR: 48,1 (10,9) IC 95% (45,9;50,2);  $p=0,002$ ]. En el análisis por grupos de edad los pacientes con RVS tienen mayor representación del grupo con menor edad frente a los NR.

Figura 6: Representación de grupos de edad en función de la respuesta al tratamiento.

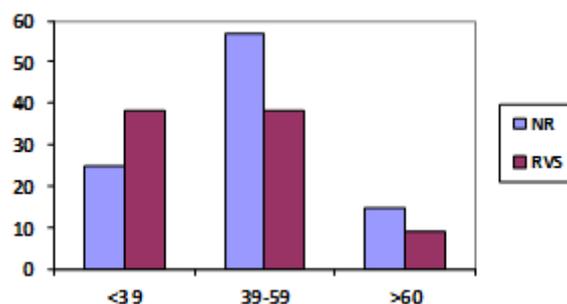


Tabla 12: Variables cuantitativas basales en no respondedores y respondedores al tratamiento.

	NR						RVS						p
	n	min	max	Media (DE)	IC 95%	Mediana (P <sub>25</sub> ;P <sub>75</sub> )	n	min	max	Media (DE)	IC 95%	Mediana (P <sub>25</sub> ;P <sub>75</sub> )	
Edad diagnóstico	97	20	64	44,9 (11,0)	(42,7;47,2)	47,0 (36,0;53,5)	85	18	66	38,9 (12,3)	(36,2;41,5)	37,0 (29,0;49,0)	0,001
Edad inicio tratamiento	97	23	68	48,1 (10,9)	(45,9;50,2)	50,0 (39,0;56,5)	85	18	72	42,5 (12,7)	(39,7;45,2)	43,0 (33,0;53,5)	0,002
Valor elastografía	59	2,8	66,4	14,0 (11,1)	(11,1;16,9)	10,4 (7,3;16,6)	66	2,8	15,4	6,6 (2,8)	(5,8;7,3)	6,1 (4,1;8,1)	<0,001

NR: no respondedor. RVS: respuesta virológica sostenida.

Entre los que alcanzaron RVS la proporción de hombres fue del 55,3% (n=47), la vía de contagio principal fue la transfusional en el 38,8% (n=33). El genotipo mayoritario fue el 1 en el 95,3% (n=81). La carga viral pretratamiento fue  $\leq 10^6$  en el 77,6% (n=66); fue significativamente menor en el grupo con RVS (p=0,032). Del 51,8% (n=44) con RVS que recibió tratamiento previo, el porcentaje de pacientes que no respondió fue significativamente menor en el grupo con RVS (p=0,015).

En las biopsias hepáticas pretratamiento no se encontró fibrosis (F0-F1) en el 81,2% de los pacientes (n=69). El estadio de fibrosis fue F2 en el 12,9% (n=11) y F3-F4 en el 5,9% (n=5) del grupo que alcanzó RVS, siendo significativamente menor la fibrosis en el grupo que alcanzó RVS (p=0,009).

#### 5.2.3.2. Características de tratamiento:

El 83,5% de los que alcanzaron RVS (71/85) recibieron IFN a dosis de 5 MU durante 48 semanas frente al 61,9% de los NR (60/97), siendo significativas las diferencias (p<0,001). Recibieron el 80% de la dosis de RBV o más el 85,9% (n=73), siendo las dosis de tratamiento recibidas significativamente mayores en el grupo con RVS (p<0,001).

Del grupo NR posteriormente recibieron tratamiento 21/97 con IFN pegilado y RBV sin obtener RVS.

**5.2.3.3. Datos analíticos:**

Los valores de ALT al final del seguimiento fueron significativamente menores en el grupo que alcanzó RVS frente a los NR ( $p < 0,001$ ), obteniendo valores dentro de la normalidad en el 90,8% de los RVS (69/76) frente al 26,8% de los NR (19/71).

Tabla 13: Variables cualitativas basales, de tratamiento y analíticas en no respondedores y respondedores al tratamiento.

Variables Cualitativas	NR (n=97)		RVS (n=85)		Total	p
	n (%)	IC 95%	n (%)	IC 95%		
<b>Sexo</b>						
Varón	59 (60,8)	(50,6;71,1)	47 (55,3)	(44,1;66,5)	106	0,546
Mujer	38 (39,2)	(28,9;49,4)	38 (44,7)	(33,5;55,9)	76	
<b>Vía de contagio</b>						
Transfusional	46 (47,4)	(36,9;57,9)	33 (38,8)	(27,9;49,8)	79	0,447
ADVP	24 (24,7)	(15,6;33,8)	27 (31,8)	(21,3;42,3)	51	
Desconocida	27 (27,8)	(18,4;37,3)	25 (29,4)	(19,1;39,7)	52	
<b>Genotipo</b>						
1	94 (96,9)	(91,2;99,4)	81 (95,3)	(88,4;98,7)	175	0,858
Otros	3 (3,1)	(0,6;8,8)	4 (4,7)	(1,3;11,6)	7	
<b>Carga viral</b>						
>10 <sup>6</sup>	37 (38,1)	(27,9;48,3)	19 (22,4)	(12,9;31,8)	56	0,032
≤10 <sup>6</sup>	60 (61,9)	(51,6;72,0)	66 (77,2)	(68,2;87,1)	126	
<b>Fibrosis</b>						
F0-F1	60 (61,9)	(51,6;72,0)	69 (81,2)	(72,3;90,1)	129	0,009
F2	19 (19,6)	(11,2;28,0)	11 (12,9)	(5,2;20,7)	30	
F3-F4	18 (18,6)	(10,3;26,8)	5 (5,9)	(1,9;13,2)	23	
<b>Respuesta a tratamiento previo</b>						
Recidiva	30 (30,9)	(21,2;40,6)	29 (34,1)	(23,5;44,8)	59	0,015
No respondedor	35 (36,1)	(26,0;46,2)	15 (17,6)	(8,9;26,3)	50	
No tratados	32 (33,0)	(23,1;42,9)	41 (48,2)	(37,0;59,4)	73	
<b>Dosis de IFN</b>						
720 (5 MUI)	60 (61,9)	(51,7;72,0)	71 (83,5)	(75,1;92,0)	131	<0,001
432 (3 MUI)	11 (11,3)	(4,5;18,2)	10 (11,8)	(4,3;19,2)	21	
<432	26 (26,8)	(17,5;36,1)	4 (4,7)	(1,3;11,6)	30	
<b>Dosis de RBV</b>						
< 80%	39 (40,2)	(29,9;50,5)	12 (14,1)	(6,1;22,1)	51	<0,001
≥ 80%	58 (59,8)	(49,5;70,1)	73 (85,9)	(77,9;93,9)	131	
<b>ALT</b>	(71/97)		(76/85)			
≤ 40U/L	19 (26,8)	(15,8;37,8)	69 (90,8)	(83,6;97,9)	88	<0,001
> 40U/L	52 (73,2)	(62,2;84,2)	7 (9,2)	(2,1;16,4)	59	

---

NR: no respondedor. RVS: respuesta virológica sostenida. UDVP: adicto a drogas por vía parenteral. IFN: interferón. RBV: ribavirina. ALT: alanina aminotransferasa.

#### **5.2.3.4. Evolución de la enfermedad hepática:**

Los resultados del análisis de la evolución de la enfermedad hepática a largo plazo según la respuesta al tratamiento se presentan en la tabla 14 y figura 8.

Al final del periodo de seguimiento el 20,3% (n=37) tenían cirrosis hepática e hipertensión portal. De ellos 17 pacientes ya presentaban datos de fibrosis avanzada en la biopsias pretratamiento, por lo que el 10,9% (n=20) desarrollaron hipertensión portal y cirrosis. Ningún paciente con RVS evolucionó a cirrosis hepática y tres pacientes con cirrosis pretratamiento permanecieron estables. Entre los NR, 20 pacientes desarrollaron una cirrosis hepática y 14 pacientes con cirrosis pretratamiento permanecieron estables. Al analizar la aparición de eventos en función de la respuesta al tratamiento, un total de 27 pacientes desarrollaron complicaciones clínicas, el 1,2% en el grupo con RVS (n=1) y el 26,8% (n=26) en los NR ( $p<0,001$ ). Entre las complicaciones un total de 18 pacientes desarrollaron ascitis, [todos ellos en el grupo NR ( $p<0,001$ )]; 22 pacientes desarrollan varices, [el 1,2% (n=1) entre los RVS y 21,6% (n=21) en NR ( $p<0,001$ )].

En 15 pacientes se desarrolló un CHC [el 3,5% (n=3) entre los RVS y el 12,4% (n=12) entre los NR].

Fallecen un total de 29 pacientes, el 9,4% (n=8) de los RVS y 21,6% (n=21) de los NR ( $p=0,041$ ). El fallecimiento fue consecuencia de la enfermedad hepática en 12 pacientes, [el 2,4% (n=2) entre RVS y el 10,3% (n=10) entre NR].

Como se muestra en la figura 9 A, B y C se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en las curvas de supervivencias entre los RVS y los NR tanto para el desarrollo de descompensación clínica, CHC y muerte de causa hepática ( $p<0,001$ ,  $p=0,043$  y  $p=0,054$  respectivamente).

El grado de fibrosis, determinado mediante ET, fue significativamente menor en el grupo con RVS [RVS: 6,6 (2,8) IC 95% (5,8;7,3) y NR: 14,0 (11,1) IC 95% (11,1;16,9);  $p < 0,001$ ]. En la tabla 15 podemos apreciar como la mayor parte de los pacientes con RVS tenían un grado de fibrosis compatible con F0 (69,7%) a diferencia de los pacientes NR que tuvieron una mayor representación de estadios más avanzados de fibrosis.

Tabla 14: Variables cualitativas de evolución y complicaciones entre no respondedores y respondedores al tratamiento.

	NR (n=97)		RVS (n=85)		P
	n (%)	IC 95%	n (%)	IC 95%	
<b>Cirrosis y/o hipertensión portal</b>	<b>34 (35,1)</b>	<b>(25,0;45,1)</b>	<b>3 (3,5)</b>	<b>(0,7;9,9)</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Descompensación clínica (todas)</b>	<b>26 (26,8)</b>	<b>(17,5;36,1)</b>	<b>1 (1,2)</b>	<b>(0,0;6,4)</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Ascitis</b>	<b>18 (100,0)</b>	<b>(81,5;100,0)</b>	<b>0 (0,0)</b>	<b>-</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Varices</b>	<b>21 (18,6)</b>	<b>(10,3;26,8)</b>	<b>1 (1,2)</b>	<b>(0,1;22,8)</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Hemorragia digestiva varicial</b>	<b>5 (5,2)</b>	<b>(1,7;11,6)</b>	<b>1 (1,7)</b>	<b>(0,0;6,4)</b>	<b>0,217</b>
<b>Encefalopatía hepática</b>	<b>5 (5,2)</b>	<b>(1,7;11,6)</b>	<b>0 (0,0)</b>	<b>-</b>	<b>0,062</b>
<b>Hepatocarcinoma</b>	<b>12 (12,4)</b>	<b>(5,3;19,4)</b>	<b>3 (3,5)</b>	<b>(0,7;9,9)</b>	<b>0,058</b>
<b>Trasplante hepático</b>	<b>3 (3,1)</b>	<b>(0,6;8,8)</b>	<b>0 (0,0)</b>	<b>-</b>	<b>0,249</b>
<b>Muerte global</b>	<b>21 (21,6)</b>	<b>(12,9;30,4)</b>	<b>8 (9,4)</b>	<b>(2,6;16,2)</b>	<b>0,041</b>
<b>Muerte de causa hepática</b>	<b>10 (10,3)</b>	<b>(3,7;16,9)</b>	<b>2 (2,4)</b>	<b>(0,3;8,2)</b>	<b>0,063</b>
<b>Muerte de causa no hepática</b>	<b>11 (11,3)</b>	<b>(4,5;18,2)</b>	<b>6 (7,1)</b>	<b>(1,0;13,1)</b>	<b>0,462</b>

NR: no respondedor. RVS: respuesta virológica sostenida.

Tabla 15: Fibrosis a largo plazo mediante elastografía en el grupo no respondedor y respondedor al tratamiento.

Elastografía hepática	NR (n=59)		RVS (n=66)		Total	p
	n (%)	IC 95%	n (%)	IC 95%		
<7,5	15 (25,4)	(13,5;37,4)	46 (69,7)	(57,9;81,5)	61	<0,001
7,5-9,4	9 (15,3)	(5,2;25,3)	10 (15,2)	(5,7;24,6)	19	
9,5-14,4	19 (32,2)	(19,4;44,9)	9 (13,6)	(4,6;22,7)	28	
≥14,5	16 (27,1)	(14,9;39,3)	1 (1,5)	(0,0;8,2)	17	

NR: no respondedor. RVS: respuesta virológica sostenida.

Figura 7: Complicaciones clínicas entre no respondedores y respondedores al tratamiento.

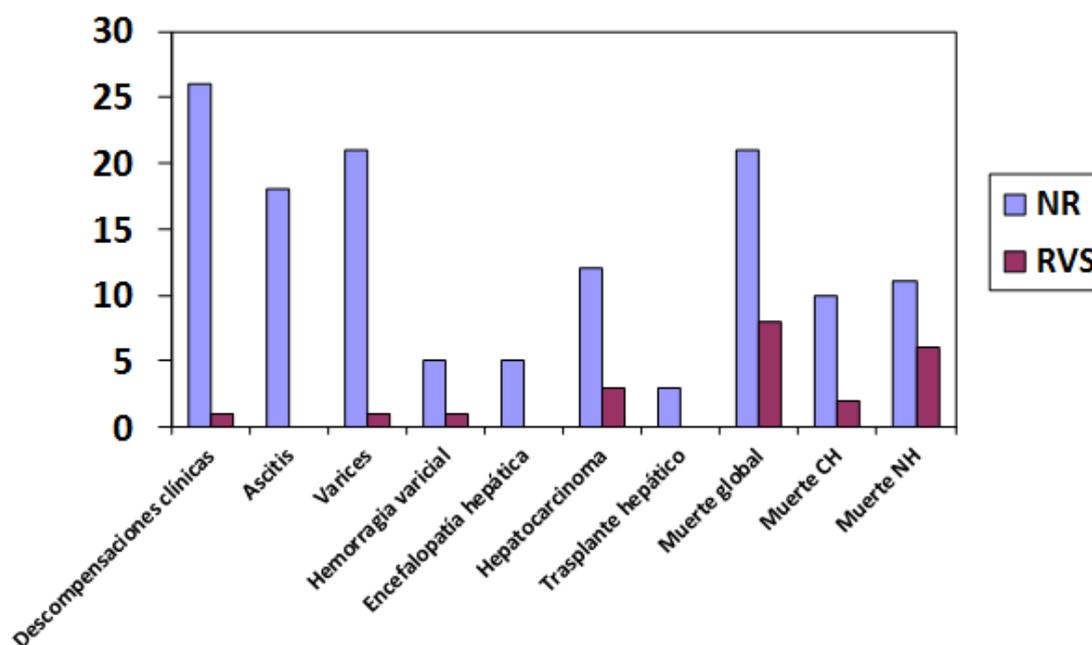
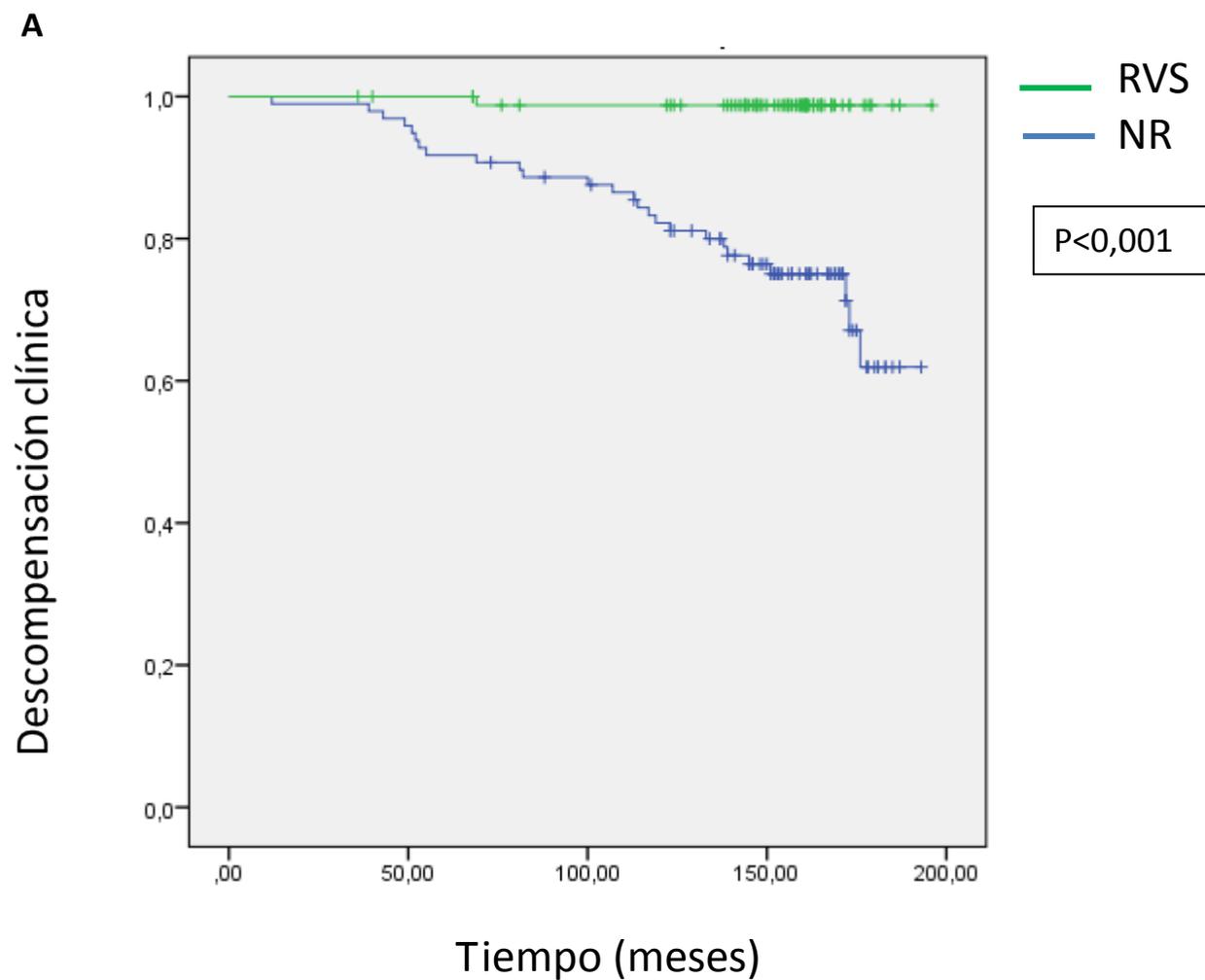
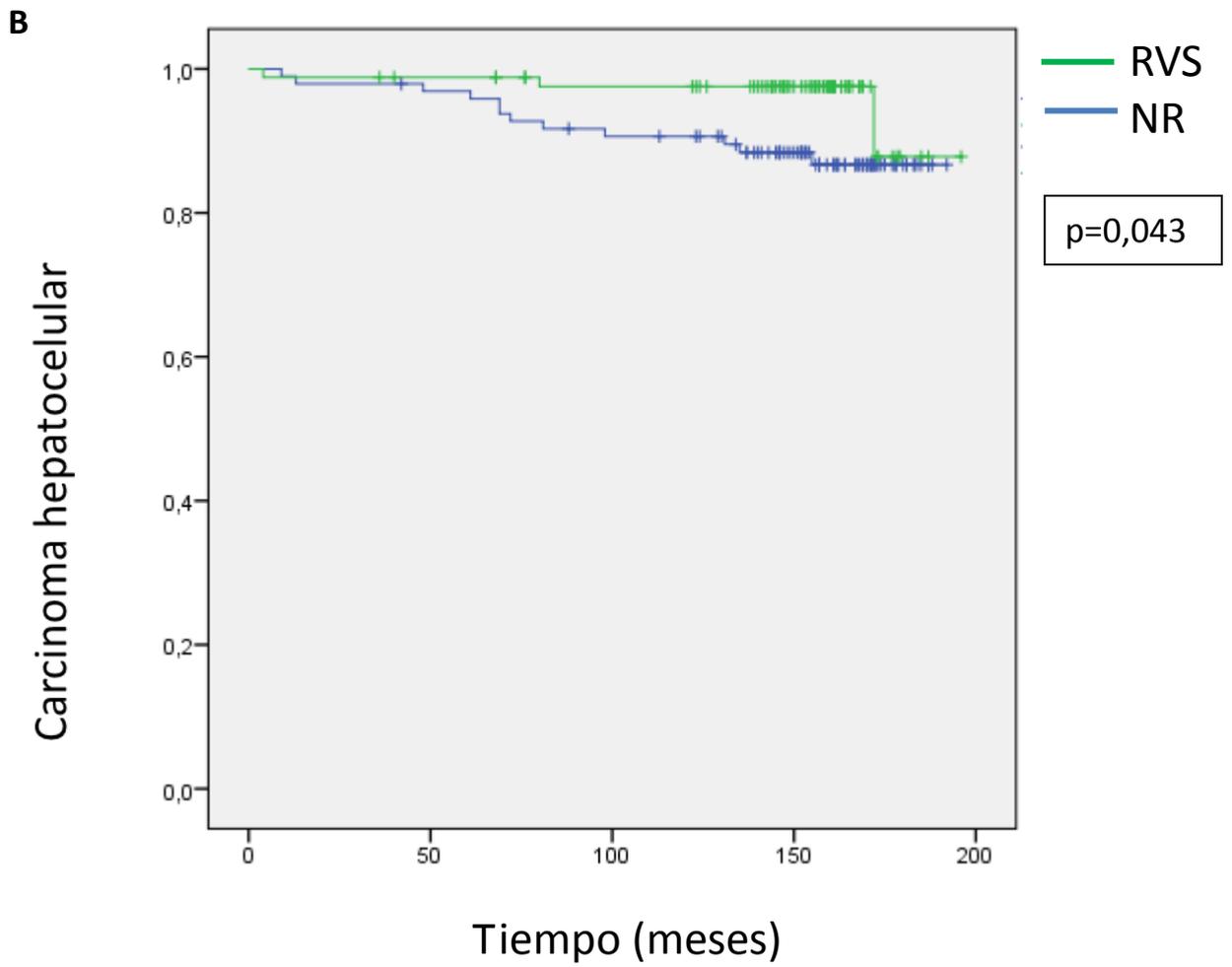
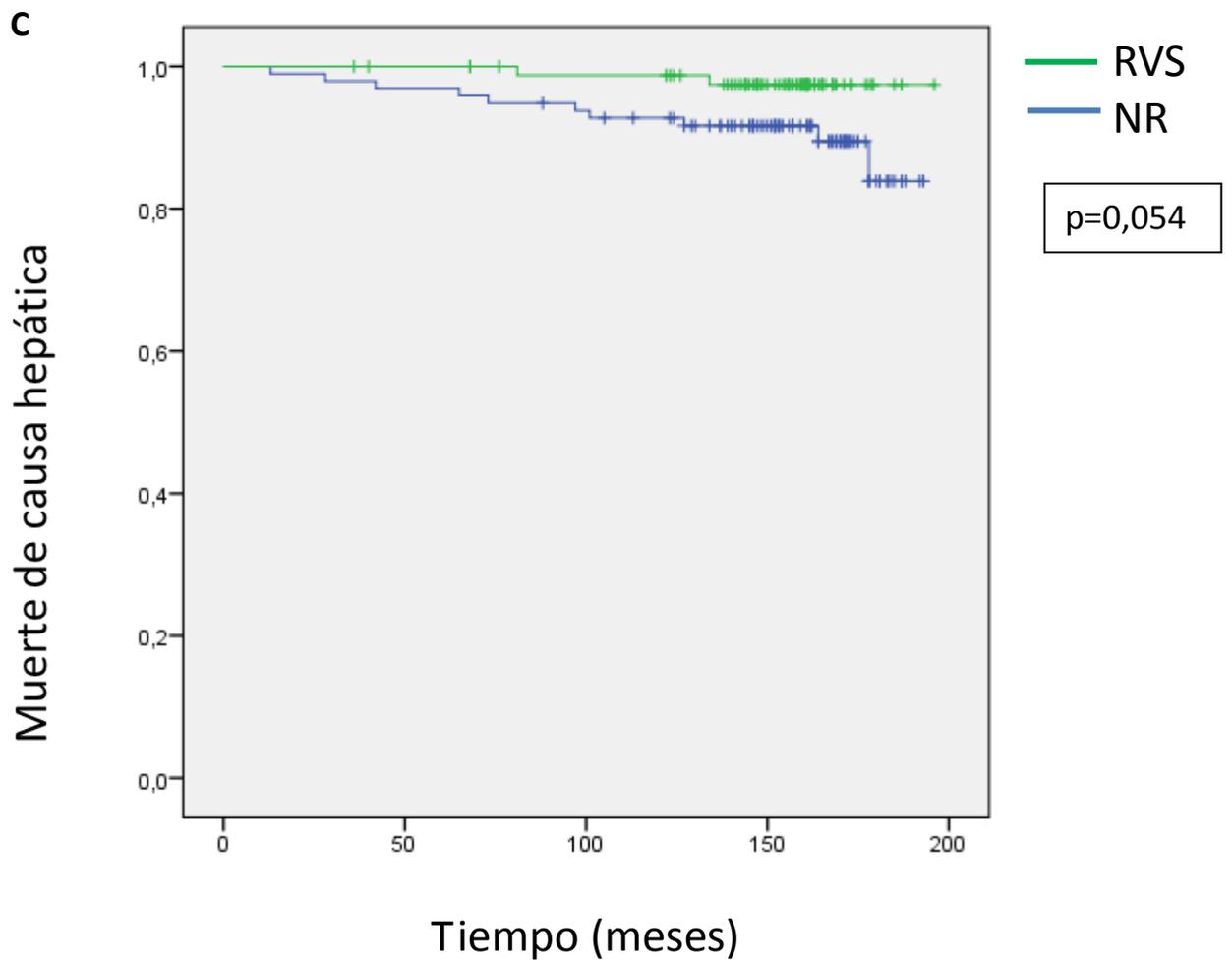


Figura 8: Curvas de supervivencia: (A) desarrollo de complicaciones, (B) hepatocarcinoma y (C) mortalidad de causa hepática en el tiempo de seguimiento.







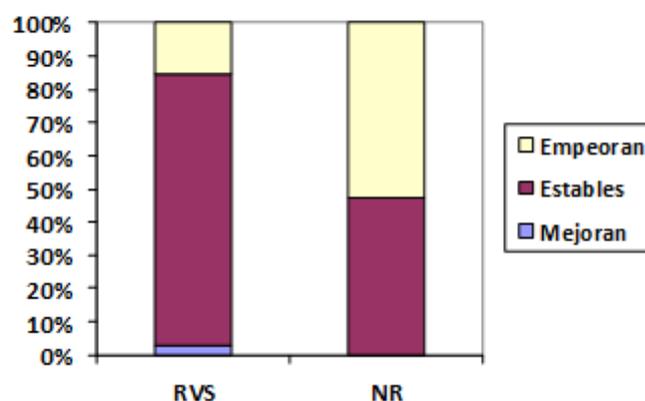
En el análisis de la evolución de la fibrosis hepática en función de la respuesta al tratamiento (figura 10), los pacientes con RVS tienen menor evolución a estadios avanzados de fibrosis frente al grupo NR (tabla 16). El valor de la ALT fue mayor de 40 en el 6,1% (n=4) del grupo con RVS y de ellos solo un paciente presentó un empeoramiento de la fibrosis. Entre los NR el 73,7% (n=42) presentó una ALT mayor de 40 y de ellos el 44% tienen un empeoramiento de la fibrosis.

Tabla 16: Evolución de la fibrosis comparando la biopsia inicial y la elastografía entre no respondedores y respondedores al tratamiento.

<b>Fibrosis pretratamiento</b>	<b>Fibrosis a largo plazo (elastografía)</b>			
	<b>NR</b>		<b>RVS</b>	
	<b>F0-F1-F2</b>	<b>F3-F4</b>	<b>F0-F1-F2</b>	<b>F3-F4</b>
	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>
<b>F0-F1-F2</b>	<b>24 (43,6)</b>	<b>31 (56,4)</b>	<b>54 (84,4)</b>	<b>10 (15,6)</b>
<b>F3-4</b>	<b>0 (0,0)</b>	<b>4 (100,0)</b>	<b>2 (100,0)</b>	<b>0 (0,0)</b>

NR: no respondedor. RVS: respuesta virológica sostenida.

Figura 9: Evolución de la fibrosis hepática a largo plazo entre respondedores y no respondedores al tratamiento.



### 5.3. Asociación entre factores de riesgo y complicaciones:

#### 5.3.1. Descompensación de la enfermedad hepática:

En la tabla 17 se presenta el análisis univariante entre el tiempo hasta que se produce el evento descompensación de la enfermedad hepática y las distintas covariables incluidas en el modelo. El mayor grado de fibrosis (F3-F4) [HR=11,46, IC 95% (5,28;24,88)  $p<0,001$ ] y la ausencia de respuesta al tratamiento combinado (NR) [HR=23,41, IC 95% (3,18;172,67)  $p=0,002$ ] condicionan mayor posibilidad de presentar una descompensación de la enfermedad hepática en cualquier momento del seguimiento.

Tabla 17: Análisis univariante de la descompensación de la enfermedad hepática:

VARIABLES	HR	IC 95%	p
<b>Edad al inicio del tratamiento:</b>			
≤ 39	1		
40-59	1,79	0,69;4,61	0,230
≥ 60	2,91	0,93;9,02	0,065
<b>Sexo</b>			
Mujer	1		0,747
Hombre	0,88	0,41;1,88	
<b>Vía contagio</b>			
Desconocida	1		0,227
Conocida	1,82	0,69;4,81	
<b>Carga pretratamiento</b>			
≤10 <sup>6</sup>	1		0,156
>10 <sup>6</sup>	0,50	0,19;1,31	
<b>Respuesta a tratamiento previo</b>			
Recidivante	1		
No respondedor	1,61	0,66;3,96	0,300
No tratado	0,63	0,23;1,74	0,371
<b>Fibrosis pretratamiento</b>			
F0-F1-F2	1		<0,001
F3-F4	11,46	5,33;24,88	
<b>Tiempo desde diagnóstico-inicio tratamiento (años)</b>			
1,01	1,01	0,99;1,02	0,193
<b>Dosis de IFN</b>			
720	1		
432-719	0,27	0,04;2,06	0,207
<432	2,19	0,97;4,96	0,061
<b>Dosis de RBV</b>			
≥ 80%	1		0,128
< 80%	1,82	0,84;3,94	
<b>Respuesta a tratamiento combinado</b>			
RVS	1		0,002
NR	23,41	3,18;172,67	

IFN: interferón. RBV: ribavirina. NR: no respondedor. RVS: respuesta virológica sostenida.

El análisis (Tabla 18) ajustado por el resto de variables, demuestra que los pacientes con fibrosis avanzada tienen 9,1 veces más riesgo de presentar una descompensación de la enfermedad hepática en cualquier instante del seguimiento [HR=9,11, IC 95% (4,13;20,09)  $p<0,001$ ], que aquellos sin fibrosis avanzada. El mayor tiempo desde el diagnóstico hasta el inicio del tratamiento [HR=1,02, IC 95% (1,00;1,03)  $p=0,012$ ] y la ausencia de respuesta al tratamiento combinado (NR) [HR=23,35, IC 95% (2,90;189,25)  $p=0,003$ ], son también factores de riesgo para desarrollar descompensación de la hepatopatía en cualquier momento del seguimiento.

Tabla 18: Modelo multivariado de la descompensación de la enfermedad hepática:

<b>Modelo multivariado</b>	<b>HR</b>	<b>IC 95%</b>	<b>p</b>
<b>Fibrosis pretratamiento</b>	<b>9,11</b>	<b>4,13;20,09</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Tiempo desde diagnóstico-inicio tratamiento (años)</b>	<b>1,02</b>	<b>1,00;1,03</b>	<b>0,012</b>
<b>RVS</b>	<b>23,35</b>	<b>2,88;189,25</b>	<b>0,003</b>

RVS: respuesta virológica sostenida.

### **5.3.2. Hepatocarcinoma:**

En la tabla 19 se presenta el análisis univariante entre el tiempo hasta que se produce el evento CHC y las distintas covariables incluidas en el modelo, la fibrosis es la única variable relacionada de forma significativa con la aparición de CHC en cualquier momento del seguimiento [HR=7,90, IC 95% (2,90;21,81)  $p<0,001$ ].

Tabla 19: Análisis univariante desarrollo de hepatocarcinoma:

VARIABLES	HR	IC 95%	p
<b>Edad al inicio del tratamiento</b>			
≤ 39	1		
40-59	8,48	1,10;65,26	0,040
≥ 60	5,63	0,51;62,14	0,158
<b>Sexo</b>			
Mujer	1		0,482
Hombre	1,47	0,50;4,29	
<b>Vía contagio</b>			
Desconocida	1		0,201
Conocida	2,64	0,60;11,71	
<b>Carga pretratamiento</b>			
≤10 <sup>6</sup>	1		0,152
>10 <sup>6</sup>	0,34	0,08;1,50	
<b>Respuesta a tratamiento previo</b>			
Recidivante	1		
No respondedor	1,93	0,56;6,61	0,297
No tratado	0,77	0,19;3,10	0,718
<b>Fibrosis pretratamiento</b>			
F0-F1-F2	1		<0,001
F3-F4	7,89	2,90;21,81	
<b>Tiempo desde diagnóstico-inicio tratamiento (años)</b>	1,01	1,00;1,02	0,430
<b>Dosis de IFN</b>			
720	1		
432-719	0,59	0,07;4,71	0,618
<432	2,93	1,01;8,46	0,047
<b>Dosis de RBV</b>			
≥ 80%	1		0,314
< 80%	1,70	0,61;4,79	
<b>Respuesta a tratamiento combinado</b>			
RVS	1		0,058
NR	3,41	0,96;12,12	

IFN: interferón. RBV: ribavirina. NR: no respondedor. RVS: respuesta virológica sostenida.

El análisis ajustado por el resto de variables demuestra que la fibrosis avanzada representa un riesgo de desarrollar CHC en cualquier instante del seguimiento [HR=8,94 IC 95% (3,18;25,14)  $p<0,001$ ], así como el mayor tiempo desde el diagnóstico hasta el inicio del tratamiento combinado [HR=1,01 IC 95% (1,00;1,03)  $p=0,019$ ] (tabla 20).

Tabla 20: Modelo multivariado de desarrollo de hepatocarcinoma:

<b>Modelo multivariado</b>	<b>HR</b>	<b>IC 95%</b>	<b>p</b>
<b>Fibrosis pretratamiento</b>	<b>8,94</b>	<b>3,18;25,14</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Tiempo desde diagnóstico-inicio tratamiento (años)</b>	<b>1,01</b>	<b>1,00;1,03</b>	<b>0,019</b>

### 5.3.3. Mortalidad global:

En la tabla 21 se presenta el análisis univariante entre el tiempo hasta que se produce la muerte del paciente y las distintas covariables incluidas en el modelo. La edad al inicio del tratamiento [HR=8,03, IC 95% (2,17;29,74)  $p=0,002$ ], la fibrosis [HR=6,71, IC 95% (3,21;14,60)  $p<0,001$ ] y la edad desde el diagnóstico hasta el inicio del tratamiento [HR=1,17, IC 95% (1,06;1,29)  $p=0,002$ ], son los factores de riesgo relacionados con el fallecimiento en cualquier momento del seguimiento.

Tabla 21: Análisis univariante de la mortalidad global.

Variables	HR	IC 95%	p
<b>Edad al inicio del tratamiento</b>			
≤ 39	1		
40-59	3,99	1,16;13,55	0,028
≥ 60	8,03	2,17;29,74	0,002
<b>Sexo</b>			
Mujer	1		0,099
Hombre	1,00	0,48;2,10	
<b>Vía contagio</b>			
Desconocida	1		0,051
Conocida	3,29	0,99;10,89	
<b>Carga pretratamiento</b>			
≤10 <sup>6</sup>	1		0,339
>10 <sup>6</sup>	0,64	0,25;1,59	
<b>Respuesta a tratamiento previo</b>			
Recidivante	1		
No respondedor	1,48	0,06;3,48	0,363
No tratado	0,53	0,19;1,48	0,222
<b>Fibrosis pretratamiento</b>			
F0-F1-F2	1		
F3-F4	6,71	3,21;14,60	<0,001
<b>Tiempo desde diagnóstico-inicio tratamiento (años)</b>	1,17	1,06;1,29	0,002
<b>Dosis de IFN</b>			
720	1		
432-719	0,56	0,13;2,42	0,438
<432	1,80	0,80;4,04	0,152
<b>Dosis de RBV</b>			
≥ 80%	1		0,168
< 80%	1,69	0,80;3,55	
<b>Respuesta a tratamiento combinado</b>			
RVS	1		0,098
NR	2,00	0,88;4,56	

IFN: interferón. RBV: ribavirina. NR: no respondedor. RVS: respuesta virológica sostenida.

El análisis ajustado por el resto de variables demuestra que los pacientes con fibrosis avanzada tienen 7,49 veces mayor riesgo de fallecer en cualquier instante del seguimiento [HR=7,49, IC 95% (3,54;15,87)  $p < 0,001$ ] (tabla 22).

Tabla 22: Modelo multivariado de mortalidad global:

Modelo multivariado	HR	IC 95%	p
Fibrosis pretratamiento	7,49	3,54;15,87	<0,001
Tiempo desde diagnóstico-inicio tratamiento (años)	1,02	1,01;1,02	<0,001

#### 5.3.4. Mortalidad de causa hepática y trasplante hepático:

En la tabla 23 se presenta el análisis univariante entre el tiempo hasta que se produce el evento muerte de causa hepática y/o trasplante hepático y las distintas covariables incluidas en el modelo. La fibrosis [HR=10,95, IC 95% (3,78;31,63)  $p < 0,001$ ], la edad desde el diagnóstico hasta el inicio del tratamiento [HR=1,02, IC 95% (1,01;1,03)  $p = 0,022$ ] y la respuesta a tratamiento combinado [HR=4,89, IC 95% (1,09;21,90)  $p = 0,038$ ], son las variables relacionadas de forma significativa con la mortalidad como consecuencia de la enfermedad hepática en cualquier momento del seguimiento.

Tabla 23: Análisis univariante de la mortalidad de causa hepática y trasplante hepático:

Variables	HR	IC 95%	p
<b>Edad al inicio del tratamiento:</b>			
≤ 39	1		
40-59	6,96	0,89;54,36	0,064
≥ 60	8,31	0,86;79,96	0,067
<b>Sexo</b>			
Mujer	1		0,325
Hombre	1,79	0,56;5,71	
<b>Vía contagio</b>			
Desconocida	1		0,260
Conocida	2,37	0,53;10,60	
<b>Carga pretratamiento</b>			
≤10 <sup>6</sup>	1		0,204
>10 <sup>6</sup>	2,65	0,59;11,88	
<b>Respuesta a tratamiento previo</b>			
Recidivante	1		
No respondedor	1,48	0,06;3,48	0,363
No tratado	0,53	0,19;1,48	0,222
<b>Fibrosis pretratamiento</b>			
F0-F1-F2	1		
F3-F4	10,95	3,79;31,63	<0,001
<b>Tiempo desde diagnóstico-inicio tratamiento (años)</b>	1,02	1,01;1,03	0,022
<b>Dosis de IFN</b>			
720	1		
432-719	0,54	0,07;4,31	0,565
<432	2,06	0,68;6,20	0,200
<b>Dosis de RBV</b>			
≥ 80%	1		0,579
< 80%	1,36	0,46;4,08	
<b>Respuesta a tratamiento combinado</b>			
RVS	1		0,038
NR	4,89	1,09;21,90	

IFN: interferón. RBV: ribavirina. NR: no respondedor. RVS: respuesta virológica sostenida.

El análisis ajustado por el resto de variables demuestra que los pacientes con fibrosis avanzada tienen 12,8 veces más riesgo de fallecer por causa hepática en cualquier instante del seguimiento [HR=12,79, IC 95% (4,31;37,95)  $p < 0,001$ ] al igual que aquellos con mayor tiempo desde el diagnóstico al inicio del tratamiento combinado [HR=1,02, IC 95% (1,00;1,03)  $p = 0,008$ ] (tabla 24).

Tabla 24: Modelo multivariado de mortalidad de causa hepática y trasplante hepático:

Modelo multivariado	HR	IC 95%	p
Fibrosis pretratamiento	12,79	4,31;37,95	<0,001
Tiempo desde diagnóstico-inicio tratamiento (años)	1,02	1,01;1,03	0,008

### 5.3.5. Mortalidad de causa no hepática:

En la tabla 25 se presenta el análisis univariante entre el tiempo hasta se produce el evento muerte de no causa hepática y las distintas covariables incluidas en el modelo. La fibrosis [HR=4,59, IC 95% (1,68;12,49)  $p = 0,003$ ] es la única variable asociada de forma significativa con el riesgo de fallecer por causa no hepática en cualquier momento del seguimiento que aquellos menos fibrosis.

Tabla 25: Análisis univariante de la mortalidad de causa no hepática:

Variables	HR	IC 95%	p
<b>Edad al inicio del tratamiento:</b>			
≤ 39	1		
40-59	1,89	0,50;7,11	0,349
≥ 60	5,28	1,31;21,24	0,019
<b>Sexo</b>			
Mujer	1		0,324
Hombre	0,62	0,24;1,61	
<b>Vía contagio</b>			
Desconocida	1		0,171
Conocida	2,81	0,64;12,31	
<b>Carga pretratamiento</b>			
≤10 <sup>6</sup>	1		0,876
>10 <sup>6</sup>	1,09	0,37;3,17	
<b>Respuesta a tratamiento previo</b>			
Recidivante	1		
No respondedor	1,59	0,43;5,94	0,488
No tratado	2,22	0,65;7,55	0,204
<b>Fibrosis pretratamiento</b>			
F0-F1-F2	1		0,003
F3-F4	4,59	1,68;12,49	
<b>Tiempo desde diagnóstico-inicio tratamiento (años)</b>	1,01	0,99;1,02	0,106
<b>Dosis de IFN</b>			
720	1		
432-719	1,03	0,22;4,78	0,965
<432	1,83	0,62;5,39	0,274
<b>Dosis de RBV</b>			
≥ 80%	1		0,125
< 80%	2,12	0,81;5,54	
<b>Respuesta a tratamiento combinado</b>			
RVS	1		0,567
NR	1,34	0,49;3,70	

IFN: interferón. RBV: ribavirina. NR: no respondedor. RVS: respuesta virológica sostenida.

El análisis ajustado por el resto de variables demuestra que los pacientes con fibrosis avanzada tienen 4,6 veces más riesgo de fallecer por causa hepática en cualquier instante del seguimiento [HR=4,59, IC 95% (1,68;12,49) p=0,003] que aquellos sin fibrosis avanzada.

## **6. DISCUSIÓN:**

La infección crónica por el VHC presenta una elevada tasa de cronicidad (estimada en un 85%). Representa en la actualidad la principal causa de enfermedad hepática en países desarrollados. Su evolución natural hacia formas avanzadas de hepatopatía, la cirrosis hepática y el CHC, hace que constituya hoy en día la principal indicación de trasplante hepático (87).

Desde que en 1986 se iniciara, de forma empírica, el tratamiento de la infección crónica con IFN (93), hemos asistido progresivamente a un incremento considerable en las tasas de respuesta al tratamiento (93, 94). La erradicación de la infección viral supone una mejoría en el pronóstico de los pacientes, en los que se constata una estabilidad o regresión de la lesión hepática, y desde el punto de vista clínico, una reducción del número de complicaciones derivadas de la hepatopatía crónica (116). La tasa de respuesta a los primeros tratamientos antivirales con IFN en monoterapia era muy baja. Con la introducción de la RBV a finales de la década de los 90 se consigue incrementar de forma muy considerable el número de pacientes en los que se consigue erradicar la infección viral (97). El seguimiento de cohortes de pacientes con RVS durante periodos prolongados de tiempo ha permitido demostrar el mantenimiento de la respuesta a largo plazo así como la mejoría del pronóstico de estos pacientes, que ven disminuida la posibilidad de desarrollar complicaciones de la enfermedad hepática terminal (131).

La técnica utilizada para el diagnóstico de la lesión hepática es la biopsia hepática. En los últimos años se han desarrollado nuevos métodos diagnósticos no invasivos, que permiten estimar el grado de fibrosis hepática evitando los inconvenientes que presenta la biopsia. Entre ellos, la ET, que permite estudiar la evolución de la fibrosis hepática a lo largo del tiempo (42).

Con el objetivo de estudiar la influencia que la RVS tiene en la historia natural de la HCC, estudiamos una cohorte de 182 pacientes que recibieron tratamiento antiviral entre 1996-7. Tras un seguimiento medio de 13 años, se confirmó la erradicación viral en el grupo de respondedores. Y analizamos los signos clínicos de evolución de la enfermedad, comparando el grupo de pacientes con RVS y NR, así como el desarrollo de complicaciones de la hepatopatía y mortalidad asociada. El uso de la ET como método diagnóstico no invasivo de la fibrosis hepática nos ha permitido evaluar la evolución de la lesión hepática en el periodo de tiempo estudiado, así como constatar las diferencias de la fibrosis hepática entre el grupo de pacientes en los que tras el tratamiento se ha logrado erradicar la infección viral y los que continúan infectados tras fracasar la terapia antiviral.

#### CARACTERÍSTICAS BASALES DE LA COHORTE ESTUDIADA

La población de pacientes de nuestro estudio tenía una edad media al inicio del tratamiento similar a la de otras cohortes de seguimiento tras la terapia antiviral (126, 137). Sin embargo, entre nuestros pacientes había una mayor proporción de mujeres (41,8%), a diferencia de lo descrito en otros trabajos (en torno al 30%) (126, 130, 138). Esta circunstancia podría justificar la mayor tasa de RVS obtenida en nuestra cohorte con el tratamiento, ya que el sexo femenino se asocia a una mayor probabilidad de respuesta (139).

En cuanto a las formas de transmisión de la infección, la vía transfusional fue la más frecuente (43,4%), dato coincidente con el estudio de Camma y cols (126). En estos pacientes podemos estimar un mínimo de 10 años de evolución de la infección, ya que adquirieron la infección antes del cribado de donantes en bancos de sangre. El UDVP constituye la segunda vía de transmisión en frecuencia (28%), al igual que lo publicado en otras series (140, 141).

El genotipo infectante en nuestra serie fue mayoritariamente el 1 (96,2%). Este dato contrasta con la distribución genotípica descrita en otras cohortes de pacientes, en las

que oscila entre el 53 y 70% (75, 122, 123, 127). En este sentido hay que tener en cuenta la posibilidad de diferencias geográficas en la distribución de los genotipos. Así, en las series procedentes de países europeos, con participación española, el genotipo 1 está presente hasta en el 70% de los pacientes estudiados (75). No obstante, el mayor porcentaje de infección por genotipo 1 en nuestra cohorte puede ser debido al azar, ya que no disponemos de grupo control.

La definición de carga viral basal elevada varía en los distintos estudios, hecho que dificulta la comparativa entre los diferentes trabajos (126, 142). Así, en el estudio de Camma y cols (126) sitúan el punto de corte en  $8 \times 10^4$  UI, y en el de Poynard y cols (142) en  $3,5 \times 10^6$  UI. En nuestro estudio consideramos el punto de corte en  $10^6$  UI, según el cual el 30,8% de los pacientes tratados presentaban una carga viral basal elevada. Este porcentaje es similar al descrito en la cohorte de Camma y cols (38%), sobre todo teniendo en cuenta que en esta serie el punto de corte es menor.

La evaluación de la fibrosis previa al tratamiento se realizó mediante la biopsia hepática; sólo un 12,6% de los pacientes estudiados tenía una fibrosis avanzada (fibrosis en puentes o cirrosis hepática). En las distintas series, el porcentaje de pacientes con fibrosis avanzada es variable, oscilando entre el 11 y el 34% (116, 123, 142, 143). La menor representación de pacientes con lesión hepática avanzada justificaría una tasa de RVS superior a la de otros estudios, así como una menor tasa de complicaciones secundarias a la enfermedad hepática evolucionada (103).

#### TRATAMIENTO ANTIVIRAL: PAUTA Y RESPUESTA

El 59,9% de los pacientes de nuestra cohorte había recibido previamente tratamiento antiviral con IFN en monoterapia. De ellos, el 54,1% habían recidivado tras finalizar el tratamiento, y en el 45,9% no se había observado respuesta (NR). En los distintos estudios de seguimiento de pacientes que reciben tratamiento antiviral encontramos datos variables de proporción de pacientes pre-tratados (144-146). Diferencias que pueden ser debidas a distintos factores, como las características del centro hospitalario,

---

el número de pacientes con HCC diagnosticados o el tamaño de la muestra estudiado, entre otros. La mayor presencia de pacientes recidivantes puede tener influencia en las tasas de RVS al tratamiento, ya que éste es el grupo en el que las tasas de respuesta son mayores.

Es importante señalar que la pauta de tratamiento es otro factor determinante en las posibilidades de respuesta al tratamiento. En nuestra serie la mayoría de los pacientes fueron tratados con dosis de IFN superiores al estándar de tratamiento. En distintos estudios se demuestra que la administración de dosis de 5, 6 y 10 MUI de IFN asocia mayores tasas de RVS, las cuales alcanzan hasta el 28%. Este dato podemos considerarlo relevante dado que la tasa de RVS con la dosis estándar es del 19% (144, 147-149). En cuanto a la RBV, la dosis fue ajustada según el peso del paciente, a 1000 o 1200 mg al día, tal y como se ha realizado en los principales estudios en fase III efectuados hasta la fecha (97, 145, 150). En nuestro estudio la mayoría de los pacientes (72%) recibieron dosis de RBV superiores al 80% de la dosis prescrita inicialmente, lo cual se asocia a una probabilidad más alta de alcanzar RVS (151). Finalmente, la duración del tratamiento fue óptima, 48 semanas en el 83.5%, mientras que en el resto se interrumpió a las 24 semanas. La prolongación del periodo de tratamiento de 24 a 48 semanas supone un incremento en las posibilidades de RVS tanto cuando se utiliza el IFN en monoterapia (152) como con la terapia combinada (97, 145), hasta el 43-38% frente al 35-31%.

La tasa de RVS en nuestra serie fue del 46,7%, ampliamente superior a la de otros estudios publicados, que oscila entre el 36 al 43% (97, 145, 153). Estas diferencias podrían estar justificadas por las características de nuestra cohorte (mayor proporción de mujeres, menor carga viral basal y menor proporción de pacientes con lesión hepática avanzada) pero también por la pauta de tratamiento que reciben (dosis superiores de IFN, dosis plenas de RBV y tratamiento prolongado a 48 semanas en la mayoría de los casos).

## EVOLUCIÓN CLÍNICA

La larga historia natural de la HCC obliga a realizar seguimientos muy prolongados en el tiempo. La escasa sintomatología clínica (y la falta de correlación con la lesión hepática) obliga a recurrir al análisis de datos objetivos mediante estudios analíticos y ecográficos, para poder estimar la evolución de la enfermedad. Sólo en los estadios avanzados, con el desarrollo de cirrosis hepática e hipertensión portal, los pacientes pueden presentar sintomatología específica que nos oriente sobre la evolución de la enfermedad. Pero sin duda, es el análisis de la lesión hepática lo que nos va a permitir objetivar el curso evolutivo de los pacientes a lo largo del tiempo estudiado.

Los hallazgos ecográficos que nos pueden indicar la evolución a cirrosis hepática son inespecíficos, con marcada subjetividad a la hora de su interpretación y por supuesto, con una notable variabilidad interobservador. Podemos observar signos evolutivos al visualizar el parénquima hepático (nodularidad de los bordes, ecogenicidad e hipertrofia del lóbulo caudado) así como signos indirectos de hipertensión portal (diámetro y flujo de la porta, presencia de colaterales, dilatación de la vena esplénica, recanalización de la vena umbilical, esplenomegalia y ascitis). Por todo ello, es comprensible la variabilidad entre los distintos estudios en los que se analizan signos ecográficos evolutivos, que oscilan entre 8,3 y 25,8% (154, 155). En nuestra serie, en el 10,9% de los pacientes podemos encontrar signos indirectos de evolución. Factores como el porcentaje de cirróticos basales, el tiempo de seguimiento o el tamaño de la muestra pueden condicionar sin duda estas diferencias. Aunque en la práctica clínica la ecografía es una técnica muy utilizada en el seguimiento de pacientes con hepatopatía crónica, no es apropiada para valorar la evolución de la enfermedad (22).

En nuestra serie las complicaciones clínicas se desarrollaron en 27 pacientes (14,8%) al cabo de un promedio de 8,9 años. Estos datos son superponibles a los obtenidos en el estudio de Coverdale y cols (140), que incluye una serie más amplia de pacientes de los cuales un 15% presentan complicaciones clínicas en un periodo medio de 9 años. En

---

otros trabajos, que incluyen pacientes con fibrosis avanzada o cirrosis, las complicaciones clínicas ocurren en un porcentaje similar (8,7-12,1%) con periodos de seguimiento entre 2 y 9 años. La probabilidad de descompensación es mayor cuanto mayor es el periodo de seguimiento (67, 130, 131).

El desarrollo de CHC en pacientes con HCC viene condicionado, en la gran mayoría de casos, por la presencia de una cirrosis hepática. Tal y como reflejan nuestros resultados, el 8,2% fueron diagnosticados de CHC en un promedio de 6 años. Esta cifra es ligeramente superior a la descrita en otras series similares en las que demuestran una incidencia de CHC del 6,8% al final del periodo de seguimiento (140). No podemos justificar estas diferencias por el número de pacientes cirróticos, que es menor en nuestra serie, pero tampoco al mayor tiempo de seguimiento, ya que la mayor parte de los CHC son diagnosticados en los primeros 6 años de seguimiento. Como es de esperar, en las cohortes que incluyen sólo pacientes con fibrosis avanzada o cirrosis, se diagnostica la presencia del tumor en un porcentaje más elevado de pacientes (hasta 14,6% tras un periodo de 9 años de seguimiento) (130, 131, 156).

La mortalidad global en nuestro estudio fue del 15,9% en un promedio de tiempo desde el inicio del tratamiento de 9,4 años. Pero sólo 12 pacientes (6,6%) fallecieron como consecuencia de la enfermedad hepática. La mayor frecuencia de mortalidad de causa no hepática podría estar justificada por mayores comorbilidades que no se han analizado, aunque como se ha demostrado en otros estudios los pacientes NR tienen una probabilidad mayor de fallecer por cualquier causa (119). Imazeki y cols en una serie con una proporción similar de pacientes cirróticos encontraron una mortalidad de causa hepática algo inferior (5,4%) que la presentada en nuestro trabajo (157). Creemos que estas diferencias pueden estar justificadas por el menor tiempo de seguimiento (8 años). En trabajos realizados en cirróticos, como era de esperar, la mortalidad de causa hepática es superior (9,6% tras un seguimiento medio de 9 años) (131).

La cuantificación de la fibrosis hepática es sin duda el parámetro más objetivo para valorar la evolución de la enfermedad hepática. Y en este sentido, la realización de biopsias hepáticas constituye una importante limitación para la realización de este tipo de estudios, ya que además de ser una técnica invasiva, no exenta de complicaciones, no suele ser bien aceptada por los pacientes. En nuestro estudio hemos utilizado la ET para estudiar la fibrosis en el 68,7% de los pacientes al final del seguimiento. En todos ellos se había realizado básicamente una biopsia hepática. La comparación de los datos de fibrosis basal y al final del periodo de seguimiento demostró que esta se mantuvo estable en 82 pacientes (65,6%) de los cuales 78 tenían un grado de fibrosis leve y 4 avanzada. Por el contrario, en 41 pacientes (32,8%) se observó un empeoramiento, evolucionando desde un estadio inicial de fibrosis leve hasta un estadio avanzado. Finalmente, en 2 pacientes (1,6%) la fibrosis regresó desde un estadio avanzado a un estadio leve.

#### MANTENIMIENTO DE LA RVS

Nuestro estudio demuestra la erradicación de la infección viral en pacientes respondedores, tras un seguimiento medio de hasta 13 años. Todos los pacientes que tuvieron RVS la mantuvieron a largo plazo sin que se produjera ninguna recidiva tardía. Otros trabajos de seguimiento a largo plazo (3 a 5 años) en pacientes respondedores demuestran un mantenimiento de la respuesta entre el 99,1 y 100% (109, 116, 141, 158). El estudio de Swain y cols demuestra en una serie de 1343 pacientes respondedores (procedentes de distintos ensayos clínicos) el mantenimiento de la respuesta, sin que se observe mayor probabilidad de recidiva tardía en función del esquema de tratamiento realizado (158). En los estudios en que se encontraron mayores tasas de recidiva tardía (115) se pudo comprobar posteriormente cómo al utilizar técnicas de PCR con mayor sensibilidad la viremia era ya positiva a las 24 semanas de seguimiento.

Sólo en un paciente se observó al final del periodo de seguimiento la desaparición de los anticuerpos anti-VHC. En nuestro estudio realizamos la determinación serológica utilizando antígenos recombinantes del VHC, c200 y NS5, junto a un péptido sintético del core (c22). El porqué del mantenimiento de los anticuerpos después de la erradicación del virus es hasta el momento desconocido. Se podría pensar en la existencia de partículas virales en reservorios como las CMSP que justificaría una estimulación antigénica mantenida. Pero cuando se han estudiado los títulos de anticuerpos frente a proteínas del core y proteínas estructurales (NS2, NS4 y NS5), se ha podido demostrar en pacientes con RVS una reducción significativa de los anticuerpos frente a proteínas estructurales a lo largo del tiempo, a diferencia de los títulos de Ac frente al core que se van reduciendo progresivamente pero se mantienen positivos con el tiempo (112, 113). Esto puede ser debido a la mayor inmunogenicidad de las proteínas estructurales, lo que conlleva un aumento precoz tras la infección y un descenso tras la RVS asociado a la ausencia de estimulación antigénica (159). Es posible que en seguimientos más prolongados en el tiempo de los pacientes con RVS pueda objetivarse la desaparición de los anticuerpos anti-VHC.

Finalmente, el valor de ALT tiende a normalizarse tras alcanzar la RVS (120, 160). Sin embargo, puede permanecer elevado por otras causas o permanecer normal en presencia de la infección viral activa. Así, en nuestra serie, el valor de ALT fue menor de 40 U/L en el 59,8% y superior a este nivel en el 40,1%, porcentajes que no corresponden a los de RVS y NR. No obstante, el valor de transaminasas, indicador de la actividad inflamatoria, es un dato a tener en cuenta a la hora de la interpretación de la ET, en la que el valor de fibrosis puede estar sobrevalorado en presencia de una intensa actividad inflamatoria (42).

#### EVALUACIÓN DE LA FIBROSIS AL FINAL DEL SEGUIMIENTO

Al finalizar el periodo de seguimiento, se realizó la cuantificación del grado de fibrosis hepática mediante la realización de la ET al 77,5% de los pacientes. Los motivos por los

que no pudo realizarse la ET fueron el fallecimiento previo en 29 pacientes, 3 pacientes habían sido trasplantados y los 9 restantes por otros motivos.

En el 11,3% de los pacientes no se obtuvieron mediciones válidas. En otra serie con un elevado volumen de exploraciones, la proporción de mediciones inválidas fue del 15,8% (53), algo superior a nuestros resultados. Esto podría estar justificado porque todas las exploraciones en nuestro estudio fueron realizadas por un operador experimentado. No obstante no se han analizado otros factores como el IMC, la diabetes mellitus o el síndrome metabólico que pueden alterar la validez de los resultados obtenidos con esta exploración (53).

Por tanto, en el 68,7% de los pacientes se obtuvieron mediciones de fibrosis hepática basal mediante biopsia hepática y al final del periodo de seguimiento con ET. En este grupo hemos podido comparar la evolución de la fibrosis en el periodo de tiempo estudiado, una vez finalizado el tratamiento antiviral. Nuestro estudio ha permitido demostrar que son dos los factores que influyen fundamentalmente en el proceso evolutivo de la enfermedad hepática: el grado de lesión hepática basal y la obtención de RVS tras el tratamiento. De este modo, los pacientes con menor grado de fibrosis basal que obtuvieron RVS continúan teniendo fibrosis ausente o leve tras el periodo de seguimiento. Y del mismo modo, aquellos que en la biopsia hepática basal presentaban una fibrosis avanzada y no respondieron al tratamiento antiviral continúan teniendo mayor grado de fibrosis al realizar la ET. La evolución a estadios avanzados de fibrosis se objetivó en pacientes NR, y la regresión de la misma en aquellos que lograron RVS.

Los estudios en los que la ET ha sido utilizada para cuantificar la fibrosis tras el tratamiento antiviral difieren del nuestro en cuanto al número de pacientes incluido, el tiempo de seguimiento y el análisis del grupo NR que permite comparar la evolución de la enfermedad tras la erradicación de la infección viral. En este sentido hay que señalar que en nuestro estudio, el grupo de pacientes NR puede presentar un sesgo de selección. Este grupo estaba formado por los pacientes que tras ser sometidos a tratamiento

---

antiviral entre 1996-7 no recibieron ningún otro tratamiento por distintos motivos hasta el final del periodo de seguimiento (edad avanzada, enfermedad hepática severa u otras comorbilidades), o bien que lo realizaron pero de nuevo fracasaron en obtener RVS. Ello excluye de este grupo probablemente a pacientes NR al primer tratamiento con enfermedad hepática más leve y mejores perspectivas de respuesta (pacientes más jóvenes, con menor comorbilidad y con menor grado de fibrosis), y por tanto, con menor riesgo de progresión de la lesión hepática. De este modo, es posible la existencia de un factor de confusión que afecta a las diferencias observadas en los dos grupos analizados.

Los datos obtenidos tras cuantificar la fibrosis al final del periodo de seguimiento demostraron un grado de fibrosis F0-F1 en el 48,8%, F2 en el 15,2%, F3 en el 22,4% y F4 en el 13,6% de los pacientes. Para el análisis de la evolución de la fibrosis se agruparon los pacientes con escasa o nula fibrosis (F0-2) y fibrosis significativa (F3-4). Así, de los 119 pacientes que tenían en la biopsia basal escasa o nula fibrosis, el 65,5% permanecieron estables mientras que en el 34,5% la fibrosis progresó a estadios más avanzados. Entre los pacientes que partían de una fibrosis avanzada basal (6 pacientes), se observó tras el seguimiento una regresión a estadios leves de fibrosis en el 33,3% mientras que el resto continuaron con una fibrosis avanzada. Nuestros datos muestran una mayor evolución a fibrosis avanzada en comparación con los obtenidos en la serie de Arima y cols, en la que sólo un 3,8% de los pacientes evolucionan a un estadio de fibrosis F3-4 (60). Estas diferencias pueden estar motivadas por el menor tiempo de seguimiento (2 años) tras la finalización del tratamiento. El número de pacientes que parten de un estadio de fibrosis avanzada en nuestro estudio es pequeño (sólo 6 pacientes), pero son similares a los publicados por Koh y cols tras un periodo de seguimiento de 7,5 años, donde se aprecia una regresión de la fibrosis en el 42,8% (65). Aunque en este caso, la ausencia de un grupo de pacientes NR no permite la comparación entre los dos grupos.

## COMPARACIÓN ENTRE EL GRUPO DE RVS Y NR

La respuesta al tratamiento antiviral administrado nos permite dividir la cohorte de pacientes en dos grupos, en función del mantenimiento de la RV a largo plazo.

A pesar de las limitaciones del estudio, el grupo de NR nos permite observar la historia natural de la enfermedad hepática en una cohorte de pacientes que no reciben tratamiento antiviral, y con las limitaciones que hemos comentado, compararla con el grupo en los que se consigue la erradicación de la infección a largo plazo.

Cuando analizamos las características basales de los pacientes de ambos grupos podemos comprobar cómo, tal y como era de esperar, la edad al diagnóstico y al inicio del tratamiento era menor en el grupo de RVS. En la serie de Yoshida y cols observan diferencias similares (156), aunque en otra no demuestran diferencias en las características basales de los pacientes (130). Sin embargo, no observamos diferencias en la proporción de mujeres. En cuanto a las características virológicas, no encontramos diferencias significativas en la proporción de genotipos (que mayoritariamente eran 1) ni en las vías de adquisición de la infección. Pero los pacientes del grupo de RVS tenían una carga viral pre-tratamiento significativamente menor, así como un menor grado de fibrosis basal. Es decir, los pacientes del grupo de RVS eran más jóvenes, con una menor CV basal y una lesión hepática más leve. Factores todos ellos predictivos de una mayor probabilidad de respuesta al tratamiento, pero también de menor riesgo de progresión de la hepatopatía (142). Las diferencias entre las características basales de los pacientes también se han encontrado en otras series similares a la nuestra. Así, los pacientes del estudio de Yoshida que presentan respuesta al tratamiento tenían menor grado de fibrosis basal (156). En otros trabajos, como el de Veldt y Toccaceli sólo encuentran diferencias en la proporción de pacientes con genotipo 1, que es mayor en el grupo de NR o entre los recaedores (122, 130). En nuestro trabajo, la escasa representación de genotipos no-1 hace que no podamos observar esta diferencia.

---

Los pacientes que alcanzaron RVS recibieron mayores dosis de IFN (5 MUI frente a 3 MUI) y RBV (> 80% de la dosis total prevista frente a < 80%). Además, la respuesta también estaba asociada de forma significativa con una mayor duración del tratamiento (48 semanas frente a 24). Nuestros datos coinciden con otros trabajos que demuestran mayor probabilidad de respuesta al recibir dosis completas de los fármacos (103, 152) y prolongar el tratamiento de 24 a 48 semanas (97). Aunque no hemos analizado los efectos adversos de los fármacos, la tasa de reducción de dosis de IFN es baja (16,5%), similar a la de estudios de registro en los que hay un abandono del tratamiento del 20% (97, 145). Por tanto, la utilización de pautas de tratamiento con mayores dosis de IFN y tiempos más prolongados está asociada de forma significativa con la obtención de RVS, sin que ello suponga una mayor tasa de abandono de los fármacos.

Tras finalizar el periodo de seguimiento, los pacientes del grupo con RVS presentaban cifras de ALT dentro del rango de la normalidad en el 90,8%, diferencias estadísticamente significativas al compararlas con los valores del grupo NR. Nuestros datos coinciden con los de otros estudios similares, en los que la proporción de pacientes que presentan niveles normales de ALT después de responder al tratamiento oscila entre el 50 y el 93% (116, 118, 120, 160). Del mismo modo, entre los NR es mucho menor el porcentaje de pacientes con ALT normal, que es del 17-5,5% en estudios con periodos de seguimientos cortos (97, 145) y del 20% en aquellos con un seguimiento más prolongado (118). Nuestros datos corroboran que la RVS se asocia a respuesta bioquímica, y que ésta es también mantenida en el seguimiento a largo plazo. No hemos analizado otros factores, como la ingesta de alcohol, fármacos hepatotóxicos o síndrome metabólico, que podrían influir en que los niveles de ALT estuvieran por encima de la normalidad.

El seguimiento en el tiempo de los dos grupos de pacientes estudiados nos ha permitido evaluar la historia natural de la enfermedad hepática. La realización de estudios prospectivos que evalúen la evolución de la enfermedad hepática en ausencia de tratamiento antiviral está limitada obviamente por motivos éticos. Nuestro grupo de

---

pacientes NR estaba formado por aquellos que presentaban contraindicación o no desearon ser tratados con posterioridad con otras opciones terapéuticas más eficaces, o en el caso de que lo hicieran, no presentaron tampoco respuesta en esta ocasión. En este grupo, como era de esperar, el grado de fibrosis basal era mayor que los que presentaron RVS. Y por último, hay que tener en cuenta que la larga historia natural de la enfermedad hace que el número de eventos clínicos que se producen en el periodo de tiempo de seguimiento no nos permita, en muchos casos, encontrar diferencias con significación estadística entre ambos grupos.

A pesar de estas limitaciones, podemos comprobar cómo desde el punto de vista clínico desarrollaron complicaciones un total de 27 pacientes (14,8%), todos excepto uno pertenecientes al grupo de NR, encontrando una reducción del riesgo de presentar complicaciones clínicas en cualquier instante del seguimiento así como una mejora en la supervivencia en los pacientes con RVS. Los estudios que analizan la evolución clínica de pacientes con hepatopatía por VHC muestran resultados dispares, motivados por la proporción de pacientes cirróticos incluidos y sobre todo, por el tiempo de seguimiento. Pero en todas ellas la aparición de complicaciones es mayor entre los pacientes que no responden al tratamiento. Así, en la serie de Veldt y cols desarrollan complicaciones el 8,7% de los pacientes, todos ellos NR (130), resultados similares a los obtenidos por Morgan y cols, en la que el 9,5% desarrollan complicaciones (sólo 2 pacientes con RVS) (67). Las series en que se incluyen sólo pacientes cirróticos muestran también claras diferencias en función de la respuesta al tratamiento (131, 132). Así, en un seguimiento a 3 años Fernández-Rodríguez y cols demuestran complicaciones clínicas en el 13,7% de los pacientes, sólo 4 de ellos pertenecientes al grupo con respuesta al tratamiento (132). Resultados similares se obtienen con seguimientos más prolongados, hasta 9 años en el estudio de Bruno y cols, con un 12,1% de complicaciones, todas ellas entre los pacientes NR (131).

La complicación asociada a la evolución de la enfermedad hepática que observamos con más frecuencia fue el desarrollo de varices esófago-gástricas, que ocurrió en 22

---

pacientes, 6 de los cuales presentaron además sangrado secundario a las mismas. La ascitis fue la segunda complicación en orden de frecuencia, apareciendo en 18 pacientes. Finalmente, 5 pacientes desarrollaron encefalopatía hepática. Todas estas complicaciones ocurrieron en pacientes NR, excepto un episodio de sangrado por varices que se produjo en un paciente con RVS. La ascitis es la complicación que con más frecuencia se describe en otras series, seguida de la hemorragia por varices y la encefalopatía (131, 132).

La ausencia de respuesta al tratamiento en nuestro estudio fue el factor que más influyó en el desarrollo de eventos clínicos en cualquier momento del seguimiento. Otras variables que se asociaron de forma independiente con la aparición de eventos clínicos fueron la fibrosis avanzada basal y el mayor tiempo de evolución de la enfermedad hasta el inicio del tratamiento, puesto que esto aumenta la posibilidad de progresión de la enfermedad hepática. Morgan encuentra que la ausencia de RVS se asocia de forma independiente a la aparición de complicaciones clínicas y a la mortalidad global (67). Fernández-Rodríguez obtiene como variables independientemente asociadas a la aparición de eventos clínicos el valor de la albúmina, la presencia de varices esofágicas y la ausencia de RVS (132). Van der Meer también obtiene que la ausencia de RVS se asocia de forma independiente con el desarrollo de complicaciones clínicas (119).

Todos excepto uno de los CHC diagnosticados durante el periodo de seguimiento ocurrieron en el grupo de NR, todos ellos cirróticos, demostrando una reducción significativa en la incidencia de CHC entre los respondedores respecto a los NR. Nuestros resultados coinciden con los de otras series en las que la incidencia del tumor es significativamente menor cuando se obtiene RVS tras el tratamiento antiviral (131, 140). Así, en la serie de Coverdale y cols 26 pacientes desarrollan CHC tras un seguimiento medio de 9 años, sólo uno de ellos en el grupo con RVS (140). Sin embargo, la presencia de cirrosis previa continúa constituyendo un factor de riesgo para el desarrollo de CHC, que puede producirse aún en pacientes que han presentado respuesta al tratamiento, aunque con menor frecuencia (67, 130-132). En las series que

incluyen sólo pacientes con RVS también se han comunicado casos de CHC en pacientes que tenían CH basal (109, 116). Ello justifica la necesidad de continuar realizando despistaje del tumor en pacientes cirróticos aún cuando se haya producido la erradicación del virus.

La evaluación del grado de fibrosis mediante ET en la paciente diagnosticada de CHC en el grupo de RVS previa al diagnóstico del tumor, confirmó que era F0. Además, tras el diagnóstico, que se produjo en estadio avanzado (no estaba sometida a programa de cribado de CHC), se realizó una biopsia hepática que descartó la presencia de cirrosis hepática. El desarrollo de CHC en pacientes no cirróticos y con RVS tras el tratamiento es muy poco frecuente, y tan sólo se han comunicado algunos casos (161, 162). Realmente, se desconoce la incidencia del tumor en este grupo de pacientes, ya que en la literatura tan sólo se comunican casos aislados estudiados retrospectivamente. En cuanto a la patogenia del tumor, se desconoce el mecanismo por el que puede inducirse la carcinogénesis, aunque se postula la posibilidad de que existan reservorios extrahepáticos del virus (en CMSP) o incluso en los propios hepatocitos (infección oculta), que podrían suponer una estimulación antigénica constante sobre la inmunidad humoral y celular. Pero también la existencia de focos pre-malignos en el momento de alcanzar la RVS y que pueden ser responsables del desarrollo tumoral años después (161, 163).

Sólo 3 pacientes de nuestra serie fueron sometidos a trasplante hepático durante el seguimiento, todos ellos NR al tratamiento antiviral. Nuestros datos coinciden con lo observado en otras series, en las que ningún paciente con RVS precisó trasplante (130, 140). Aunque de nuevo el escaso número de pacientes impide que las diferencias observadas alcancen significación estadística, podemos observar cómo la RVS supone para los pacientes con hepatopatía por VHC un menor riesgo de complicaciones de la hepatopatía y por tanto, una menor probabilidad de ser sometidos a trasplante hepático como consecuencia de las mismas o por insuficiencia hepática avanzada.

La reducción de la mortalidad es el objetivo final de cualquier medida terapéutica, aunque generalmente se utilizan otros indicadores intermedios que requieren un menor tiempo de observación (reducción de síntomas o complicaciones). En el caso de enfermedades con una larga historia natural, como la hepatopatía por VHC, la demostración del impacto de los tratamientos sobre la mortalidad requiere un largo tiempo de observación. En nuestro estudio, tras un seguimiento medio de 13 años, observamos un total de 29 fallecimientos. La mortalidad global fue superior entre los pacientes NR, diferencias que alcanzaron significación estadística. Sin embargo, cuando analizamos la causa del fallecimiento, encontramos entre los NR mayor mortalidad tanto de causa hepática como no hepática. Aunque en este caso se pierde la significación estadística, continúan existiendo diferencias clínicamente relevantes al demostrar menor mortalidad de causa hepática en el grupo de pacientes con respuesta al tratamiento antiviral. Son varios los estudios que demuestran reducción significativa de la mortalidad de causa hepática entre los pacientes que responden al tratamiento (130, 131, 140, 157). En un estudio reciente, Van der Meer y cols demuestran tras un periodo de seguimiento de 8 años, una reducción de 4 veces en el riesgo de mortalidad global en pacientes con fibrosis avanzada o cirrosis que presentaban respuesta al tratamiento (119). Morgan y cols obtienen también resultados similares tras un periodo de seguimiento de 7,5 años (67).

La evaluación de la lesión hepática, generalmente mediante la realización de una biopsia, ha sido hasta hace pocos años una práctica común antes de someter al paciente a tratamiento antiviral. Ello permite establecer la gravedad de la enfermedad hepática y evaluar la evolución de la misma a lo largo del tiempo. Sin embargo, la realización de biopsias de control no es habitual en la práctica clínica, ya que es una exploración no exenta de morbi-mortalidad que en ocasiones no es bien aceptada por el paciente (26). En distintos estudios se ha demostrado, mediante la realización de biopsias pareadas tras el tratamiento, la mejoría histológica cuando se logra respuesta al tratamiento (116, 127). La regresión de la fibrosis es además mayor cuanto mayor es el intervalo de

tiempo entre ambas biopsias (es decir, cuanto mayor es el tiempo que el paciente permanece con RVS), aunque en estos estudios no se superan los 5 años de seguimiento (109, 116, 122, 126).

Al finalizar el periodo de seguimiento, el grado de fibrosis medida mediante ET fue significativamente superior en pacientes NR, con una mayor evolución a estadios de fibrosis avanzada. En el grupo de pacientes con RVS un pequeño número de pacientes tuvieron regresión de la fibrosis. El empeoramiento de la lesión hepática entre los respondedores al tratamiento pudiera estar justificado por la existencia de otros factores (consumo de alcohol, síndrome metabólico, etc.) que no hemos analizado. Solo uno de estos pacientes presentaba niveles elevados de ALT (71 U/L), con lo que descartamos que la actividad necroinflamatoria influyera en el valor obtenido de la rigidez hepática. Los estudios en los que se ha utilizado la ET para la evaluar la lesión hepática antes y tras finalizar el tratamiento demuestran una reducción de la fibrosis hepática tanto en aquellos con RVS como en los NR con respuesta bioquímica (59-63). Sin embargo, solo en aquellos con RVS la reducción es constante en el tiempo, por lo que los cambios no sólo estarían justificados por la mejoría inflamatoria. Tres estudios analizan la fibrosis hepática basal con biopsias y la evolución de la misma a largo plazo evaluada mediante ET (63-65). Estos estudios con diseño similar al nuestro tienen un seguimiento medio que oscila entre 5-7,5 años tras finalizar el tratamiento. Andersen y cols comparan la evolución de la fibrosis entre respondedores y no respondedores observando una reducción significativa de la rigidez hepática entre los pacientes con RVS tras un periodo de seguimiento medio de 3,9 años (63). En los otros estudios solo incluyen pacientes con RVS y los pacientes que presentaban fibrosis leve no progresan tras la respuesta al tratamiento (64, 65). La regresión de los estadios de fibrosis avanzada fue muy escasa, lo que sugiere como ya se ha establecido en los estudios con biopsias, que la regresión histológica es lenta siendo necesario probablemente un largo periodo de seguimiento para poder apreciar modificaciones en el grado de fibrosis en aquellos pacientes con estadios avanzados de la enfermedad.

La ET, cuyo uso se ha generalizado en la práctica diaria para la valoración no invasiva de la fibrosis hepática, constituye sin duda un arma de gran valor diagnóstico para evaluar la historia natural de la enfermedad hepática producida por el VHC. La incorporación de los nuevos antivirales en el tratamiento de estos pacientes ya ha supuesto un notable incremento en las tasas de RVS, aunque fármacos muy prometedores que actualmente están siendo investigados conseguirán la erradicación de la infección en una proporción cercana al 100%. Es por eso que esperamos que en los próximos años su principal utilidad sea la de evaluar la regresión de la fibrosis hepática tras la curación de la infección.

## 7. CONCLUSIONES

1. En pacientes con HCC, la respuesta al tratamiento antiviral es mantenida en el tiempo, sin que se observen recidivas tardías tras negativizar la viremia durante el tratamiento.
2. Los pacientes con RVS tras el tratamiento tienen un menor riesgo de desarrollar complicaciones asociadas a la enfermedad hepática avanzada.
3. La RVS se asocia a una reducción en la mortalidad de causa hepática y desarrollo de CHC. El riesgo de este tumor no desaparece completamente.
4. La ET es una técnica útil y segura que permite evaluar la evolución de la lesión hepática a lo largo del tiempo.
5. Los pacientes con RVS presentan una estabilización o incluso regresión de los valores de fibrosis hepática medida por ET. Es probable que en seguimientos más prolongados esta mejoría sea incluso más evidente.



## 8. BIBLIOGRAFIA

1. Seeff LB, Buskell-Bales Z, Wright EC, Durako SJ, Alter HJ, Iber FL, et al. Long-term mortality after transfusion-associated non-A, non-B hepatitis. the national heart, lung, and blood institute study group. *N Engl J Med.* 1992 Dec 31;327(27):1906-11.
2. Aach RD, Stevens CE, Hollinger FB, Mosley JW, Peterson DA, Taylor PE, et al. Hepatitis C virus infection in post-transfusion hepatitis. an analysis with first- and second-generation assays. *N Engl J Med.* 1991 Nov 7;325(19):1325-9.
3. Alter MJ, Margolis HS, Krawczynski K, Judson FN, Mares A, Alexander WJ, et al. The natural history of community-acquired hepatitis C in the united states. the sentinel counties chronic non-A, non-B hepatitis study team. *N Engl J Med.* 1992 Dec 31;327(27):1899-905.
4. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2001 Jul 5;345(1):41-52.
5. Pawlotsky JM, Chevaliez S, McHutchison JG. The hepatitis C virus life cycle as a target for new antiviral therapies. *Gastroenterology.* 2007 May;132(5):1979-98.
6. Noorali S, Pace DG, Bagasra O. Of lives and livers: Emerging responses to the hepatitis C virus. *J Infect Dev Ctries.* 2011 Feb 1;5(1):1-17.
7. Esteban JI, Sauleda S, Quer J. The changing epidemiology of hepatitis C virus infection in europe. *J Hepatol.* 2008 Jan;48(1):148-62.
8. Law MG, Dore GJ, Bath N, Thompson S, Crofts N, Dolan K, et al. Modelling hepatitis C virus incidence, prevalence and long-term sequelae in australia, 2001. *Int J Epidemiol.* 2003 Oct;32(5):717-24.
9. Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, McQuillan GM, Kuhnert WL, Alter MJ. The prevalence of hepatitis C virus infection in the united states, 1999 through 2002. *Ann Intern Med.* 2006 May 16;144(10):705-14.
10. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol.* 2007 May 7;13(17):2436-41.

11. Mohamed MK, Abdel-Hamid M, Mikhail NN, Abdel-Aziz F, Medhat A, Magder LS, et al. Intrafamilial transmission of hepatitis C in egypt. *Hepatology*. 2005 Sep;42(3):683-7.
12. Muhlberger N, Schwarzer R, Lettmeier B, Sroczynski G, Zeuzem S, Siebert U. HCV-related burden of disease in europe: A systematic assessment of incidence, prevalence, morbidity, and mortality. *BMC Public Health*. 2009 Jan 22;9:34,2458-9-34.
13. Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: New estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology*. 2013 Apr;57(4):1333-42.
14. Lavanchy D. The global burden of hepatitis C. *Liver Int*. 2009 Jan;29 Suppl 1:74-81.
15. European Association of the Study of the Liver. 2011 european association of the study of the liver hepatitis C virus clinical practice guidelines. *Liver Int*. 2012 Feb;32 Suppl 1:2-8.
16. Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect Dis*. 2005 Sep;5(9):558-67.
17. Bruguera M, Forns X. Hepatitis C in spain. *Med Clin (Barc)*. 2006 Jun 17;127(3):113-7.
18. Tohme RA, Holmberg SD. Transmission of hepatitis C virus infection through tattooing and piercing: A critical review. *Clin Infect Dis*. 2012 Apr;54(8):1167-78.
19. Kamili S, Drobeniuc J, Araujo AC, Hayden TM. Laboratory diagnostics for hepatitis C virus infection. *Clin Infect Dis*. 2012 Jul;55 Suppl 1:S43-8.
20. Saldanha J, Heath A, Aberham C, Albrecht J, Gentili G, Gessner M, et al. World health organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sang*. 2005 Apr;88(3):202-4.
21. Colucci G. Molecular diagnostic and predictive tests in the evolution of chronic hepatitis C anti-viral therapies. *BMC Infect Dis*. 2012;12 Suppl 2:S8,2334-12-S2-S8. Epub 2012 Nov 12.
22. Castera L. Noninvasive methods to assess liver disease in patients with hepatitis B or C. *Gastroenterology*. 2012 May;142(6):1293,1302.e4.

23. European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines: Management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2011 Aug;55(2):245-64.
24. Palacios Perez A, Salmeron Escobar J. Role of liver biopsy in the diagnosis and management of chronic hepatitis C. *Gastroenterol Hepatol.* 2007 Aug-Sep;30(7):402-7.
25. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pylsopoulos NT, et al. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol.* 2002 Oct;97(10):2614-8.
26. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD, American Association for the Study of Liver Diseases. Liver biopsy. *Hepatology.* 2009 Mar;49(3):1017-44.
27. Sheth SG, Flamm SL, Gordon FD, Chopra S. AST/ALT ratio predicts cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol.* 1998 Jan;93(1):44-8.
28. Murawaki Y, Koda M, Okamoto K, Mimura K, Kawasaki H. Diagnostic value of serum type IV collagen test in comparison with platelet count for predicting the fibrotic stage in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol.* 2001 Jul;16(7):777-81.
29. Snyder N, Gajula L, Xiao SY, Grady J, Luxon B, Lau DT, et al. APRI: An easy and validated predictor of hepatic fibrosis in chronic hepatitis C. *J Clin Gastroenterol.* 2006 Jul;40(6):535-42.
30. Lok AS, Ghany MG, Goodman ZD, Wright EC, Everson GT, Sterling RK, et al. Predicting cirrhosis in patients with hepatitis C based on standard laboratory tests: Results of the HALT-C cohort. *Hepatology.* 2005 Aug;42(2):282-92.
31. Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, Aponte J, Quinto L, Martinez-Bauer E, et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology.* 2002 Oct;36(4 Pt 1):986-92.
32. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poynard T, et al. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: A prospective study. *Lancet.* 2001 Apr 7;357(9262):1069-75.
33. Koda M, Matunaga Y, Kawakami M, Kishimoto Y, Suou T, Murawaki Y. FibroIndex, a practical index for predicting significant fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2007 Feb;45(2):297-306.

34. Kotlyar DS, Blonski W, Rustgi VK. Noninvasive monitoring of hepatitis C fibrosis progression. *Clin Liver Dis.* 2008 Aug;12(3):557,71, viii.
35. McHutchison JG, Blatt LM, de Medina M, Craig JR, Conrad A, Schiff ER, et al. Measurement of serum hyaluronic acid in patients with chronic hepatitis C and its relationship to liver histology. consensus interferon study group. *J Gastroenterol Hepatol.* 2000 Aug;15(8):945-51.
36. Saitou Y, Shiraki K, Yamanaka Y, Yamaguchi Y, Kawakita T, Yamamoto N, et al. Noninvasive estimation of liver fibrosis and response to interferon therapy by a serum fibrogenesis marker, YKL-40, in patients with HCV-associated liver disease. *World J Gastroenterol.* 2005 Jan 28;11(4):476-81.
37. Zaman A, Rosen HR, Ingram K, Corless CL, Oh E, Smith K. Assessment of FIBROSpect II to detect hepatic fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Am J Med.* 2007 Mar;120(3):280.e9,280.14.
38. Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D, et al. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: A cohort study. *Gastroenterology.* 2004 Dec;127(6):1704-13.
39. Adams LA, Bulsara M, Rossi E, DeBoer B, Speers D, George J, et al. Hepascore: An accurate validated predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C infection. *Clin Chem.* 2005 Oct;51(10):1867-73.
40. Rockey DC, Bissell DM. Noninvasive measures of liver fibrosis. *Hepatology.* 2006 Feb;43(2 Suppl 1):S113-20.
41. Kim AY, Kim YK, Lee MW, Park MJ, Hwang J, Lee MH, et al. Detection of hepatocellular carcinoma in gadoxetic acid-enhanced MRI and diffusion-weighted MRI with respect to the severity of liver cirrhosis. *Acta Radiol.* 2012 Oct 1;53(8):830-8.
42. Schmeltzer PA, Talwalkar JA. Noninvasive tools to assess hepatic fibrosis: Ready for prime time? *Gastroenterol Clin North Am.* 2011 Sep;40(3):507-21.
43. Hagiwara M, Rusinek H, Lee VS, Losada M, Bannan MA, Krinsky GA, et al. Advanced liver fibrosis: Diagnosis with 3D whole-liver perfusion MR imaging--initial experience. *Radiology.* 2008 Mar;246(3):926-34.
44. Yin M, Chen J, Glaser KJ, Talwalkar JA, Ehman RL. Abdominal magnetic resonance elastography. *Top Magn Reson Imaging.* 2009 Apr;20(2):79-87.

45. Kuroda H, Kakisaka K, Tatemichi Y, Sawara K, Miyamoto Y, Oikawa K, et al. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using acoustic radiation force impulse imaging in chronic hepatitis patients with hepatitis C virus infection. *Hepatogastroenterology*. 2010 Sep-Oct;57(102-103):1203-7.
46. Ferraioli G, Tinelli C, Dal Bello B, Zicchetti M, Filice G, Filice C, et al. Accuracy of real-time shear wave elastography for assessing liver fibrosis in chronic hepatitis C: A pilot study. *Hepatology*. 2012 Dec;56(6):2125-33.
47. Stauber RE, Lackner C. Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis in chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol*. 2007 Aug 28;13(32):4287-94.
48. Carrion JA. Utility of fibroscan in the evaluation of liver fibrosis. *Gastroenterol Hepatol*. 2009 Jun-Jul;32(6):415-23.
49. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier C, Mal F, et al. Transient elastography: A new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol*. 2003 Dec;29(12):1705-13.
50. Ogawa E, Furusyo N, Toyoda K, Takeoka H, Otaguro S, Hamada M, et al. Transient elastography for patients with chronic hepatitis B and C virus infection: Non-invasive, quantitative assessment of liver fibrosis. *Hepatol Res*. 2007 Dec;37(12):1002-10.
51. Stasi C, Arena U, Vizzutti F, Zignego AL, Monti M, Laffi G, et al. Transient elastography for the assessment of liver fibrosis in patients with chronic viral hepatitis: The missing tool? *Dig Liver Dis*. 2009 Dec;41(12):863-6.
52. Friedrich-Rust M, Ong MF, Martens S, Sarrazin C, Bojunga J, Zeuzem S, et al. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: A meta-analysis. *Gastroenterology*. 2008 Apr;134(4):960-74.
53. Castera L, Foucher J, Bernard PH, Carvalho F, Allaix D, Merrouche W, et al. Pitfalls of liver stiffness measurement: A 5-year prospective study of 13,369 examinations. *Hepatology*. 2010 Mar;51(3):828-35.
54. Calvaruso V, Camma C, Di Marco V, Maimone S, Bronte F, Enea M, et al. Fibrosis staging in chronic hepatitis C: Analysis of discordance between transient elastography and liver biopsy. *J Viral Hepat*. 2010 Jul;17(7):469-74.
55. Castera L, Vergniol J, Foucher J, Le Bail B, Chanteloup E, Haaser M, et al. Prospective comparison of transient elastography, fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2005 Feb;128(2):343-50.

56. Tsochatzis EA, Gurusamy KS, Ntaoula S, Cholongitas E, Davidson BR, Burroughs AK. Elastography for the diagnosis of severity of fibrosis in chronic liver disease: A meta-analysis of diagnostic accuracy. *J Hepatol*. 2011 Apr;54(4):650-9.
57. Shaheen AA, Wan AF, Myers RP. FibroTest and FibroScan for the prediction of hepatitis C-related fibrosis: A systematic review of diagnostic test accuracy. *Am J Gastroenterol*. 2007 Nov;102(11):2589-600.
58. Cardoso AC, Carvalho-Filho RJ, Marcellin P. Transient elastography in chronic viral hepatitis: A critical appraisal. *Gut*. 2011 Jun;60(6):759-64.
59. Hezode C, Castera L, Roudot-Thoraval F, Bouvier-Alias M, Rosa I, Roulot D, et al. Liver stiffness diminishes with antiviral response in chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011 Sep;34(6):656-63.
60. Arima Y, Kawabe N, Hashimoto S, Harata M, Nitta Y, Murao M, et al. Reduction of liver stiffness by interferon treatment in the patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res*. 2010 Apr;40(4):383-92.
61. Wang JH, Changchien CS, Hung CH, Tung WC, Kee KM, Chen CH, et al. Liver stiffness decrease after effective antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C: Longitudinal study using FibroScan. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010 May;25(5):964-9.
62. Ogawa E, Furusyo N, Toyoda K, Takeoka H, Maeda S, Hayashi J. The longitudinal quantitative assessment by transient elastography of chronic hepatitis C patients treated with pegylated interferon alpha-2b and ribavirin. *Antiviral Res*. 2009 Aug;83(2):127-34.
63. Andersen ES, Moessner BK, Christensen PB, Kjaer M, Krarup H, Lilllevang S, et al. Lower liver stiffness in patients with sustained virological response 4 years after treatment for chronic hepatitis C. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2011 Jan;23(1):41-4.
64. Trapero-Marugan M, Mendoza J, Chaparro M, Gonzalez-Moreno L, Moreno-Monteagudo JA, Borque MJ, et al. Long-term outcome of chronic hepatitis C patients with sustained virological response to peginterferon plus ribavirin. *World J Gastroenterol*. 2011 Jan 28;17(4):493-8.
65. Koh C, Heller T, Haynes-Williams V, Hara K, Zhao X, Feld JJ, et al. Long-term outcome of chronic hepatitis C after sustained virological response to interferon-based therapy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013 Mar 6.
66. Lucidarme D, Foucher J, Le Bail B, Vergniol J, Castera L, Duburque C, et al. Factors of accuracy of transient elastography (fibroskan) for the diagnosis of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2009 Apr;49(4):1083-9.

67. Morgan TR, Ghany MG, Kim HY, Snow KK, Shiffman ML, De Santo JL, et al. Outcome of sustained virological responders with histologically advanced chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2010 Sep;52(3):833-44.
68. Maasoumy B, Wedemeyer H. Natural history of acute and chronic hepatitis C. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2012 Aug;26(4):401-12.
69. Blackard JT, Shata MT, Shire NJ, Sherman KE. Acute hepatitis C virus infection: A chronic problem. *Hepatology*. 2008 Jan;47(1):321-31.
70. Chen SL, Morgan TR. The natural history of hepatitis C virus (HCV) infection. *Int J Med Sci*. 2006;3(2):47-52.
71. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. the OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. *Lancet*. 1997 Mar 22;349(9055):825-32.
72. Thein HH, Yi Q, Dore GJ, Krahn MD. Estimation of stage-specific fibrosis progression rates in chronic hepatitis C virus infection: A meta-analysis and meta-regression. *Hepatology*. 2008 Aug;48(2):418-31.
73. Wiese M, Grungreiff K, Guthoff W, Lafrenz M, Oesen U, Porst H, et al. Outcome in a hepatitis C (genotype 1b) single source outbreak in germany--a 25-year multicenter study. *J Hepatol*. 2005 Oct;43(4):590-8.
74. Freeman AJ, Dore GJ, Law MG, Thorpe M, Von Overbeck J, Lloyd AR, et al. Estimating progression to cirrhosis in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 2001 Oct;34(4 Pt 1):809-16.
75. Pradat P, Tillmann HL, Sauleda S, Braconier JH, Saracco G, Thursz M, et al. Long-term follow-up of the hepatitis C HENCORE cohort: Response to therapy and occurrence of liver-related complications. *J Viral Hepat*. 2007 Aug;14(8):556-63.
76. Camarero C, Ramos N, Moreno A, Asensio A, Mateos ML, Roldan B. Hepatitis C virus infection acquired in childhood. *Eur J Pediatr*. 2008 Feb;167(2):219-24.
77. Mutimer DJ, Gunson B, Chen J, Berenguer J, Neuhaus P, Castaing D, et al. Impact of donor age and year of transplantation on graft and patient survival following liver transplantation for hepatitis C virus. *Transplantation*. 2006 Jan 15;81(1):7-14.
78. Ostapowicz G, Fontana RJ, Schiodt FV, Larson A, Davern TJ, Han SH, et al. Results of a prospective study of acute liver failure at 17 tertiary care centers in the united states. *Ann Intern Med*. 2002 Dec 17;137(12):947-54.

79. Feld JJ, Liang TJ. Hepatitis C -- identifying patients with progressive liver injury. *Hepatology*. 2006 Feb;43(2 Suppl 1):S194-206.
80. Degos F. Hepatitis C and alcohol. *J Hepatol*. 1999;31 Suppl 1:113-8.
81. De Luca L, De Angelis C, Fagoonee S, Di Bella S, Rizzetto M, Pellicano R. Is smoking a prognostic factor in patients with chronic hepatitis C? *Minerva Gastroenterol Dietol*. 2009 Jun;55(2):139-43.
82. Sebastiani G, Walker AP. HFE gene in primary and secondary hepatic iron overload. *World J Gastroenterol*. 2007 Sep 21;13(35):4673-89.
83. Graham CS, Baden LR, Yu E, Mrus JM, Carnie J, Heeren T, et al. Influence of human immunodeficiency virus infection on the course of hepatitis C virus infection: A meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2001 Aug 15;33(4):562-9.
84. Zignego AL, Giannini C, Gragnani L, Piluso A, Fognani E. Hepatitis C virus infection in the immunocompromised host: A complex scenario with variable clinical impact. *J Transl Med*. 2012 Aug 3;10:158,5876-10-158.
85. Hui JM, Sud A, Farrell GC, Bandara P, Byth K, Kench JG, et al. Insulin resistance is associated with chronic hepatitis C virus infection and fibrosis progression [corrected]. *Gastroenterology*. 2003 Dec;125(6):1695-704.
86. Negro F. Mechanisms and significance of liver steatosis in hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*. 2006 Nov 14;12(42):6756-65.
87. El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: Epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology*. 2007 Jun;132(7):2557-76.
88. Lee MH, Yang HI, Lu SN, Jen CL, You SL, Wang LY, et al. Chronic hepatitis C virus infection increases mortality from hepatic and extrahepatic diseases: A community-based long-term prospective study. *J Infect Dis*. 2012 Aug 15;206(4):469-77.
89. Omland LH, Krarup H, Jepsen P, Georgsen J, Harritshoj LH, Riisom K, et al. Mortality in patients with chronic and cleared hepatitis C viral infection: A nationwide cohort study. *J Hepatol*. 2010 Jul;53(1):36-42.
90. Ridruejo E. Increased mortality in chronic HCV infection. *Ann Hepatol*. 2012 Nov-Dec;11(6):967-8.

91. Gultinan AM, Kaidarova Z, Custer B, Orland J, Stollo A, Cyrus S, et al. Increased all-cause, liver, and cardiac mortality among hepatitis C virus-seropositive blood donors. *Am J Epidemiol.* 2008 Mar 15;167(6):743-50.
92. Amin J, Law MG, Bartlett M, Kaldor JM, Dore GJ. Causes of death after diagnosis of hepatitis B or hepatitis C infection: A large community-based linkage study. *Lancet.* 2006 Sep 9;368(9539):938-45.
93. Hoofnagle JH, Mullen KD, Jones DB, Rustgi V, Di Bisceglie A, Peters M, et al. Treatment of chronic non-A,non-B hepatitis with recombinant human alpha interferon. A preliminary report. *N Engl J Med.* 1986 Dec 18;315(25):1575-8.
94. Scott LJ, Perry CM. Interferon-alpha-2b plus ribavirin: A review of its use in the management of chronic hepatitis C. *Drugs.* 2002;62(3):507-56.
95. Keeffe EB, Hollinger FB. Therapy of hepatitis C: Consensus interferon trials. consensus interferon study group. *Hepatology.* 1997 Sep;26(3 Suppl 1):101S-7S.
96. Poynard T, Bedossa P, Chevallier M, Mathurin P, Lemonnier C, Trepo C, et al. A comparison of three interferon alfa-2b regimens for the long-term treatment of chronic non-A, non-B hepatitis. multicenter study group. *N Engl J Med.* 1995 Jun 1;332(22):1457-62.
97. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, Niederau C, Minuk GS, Ideo G, et al. Randomised trial of interferon alpha2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. international hepatitis interventional therapy group (IHIT). *Lancet.* 1998 Oct 31;352(9138):1426-32.
98. Lau JY, Tam RC, Liang TJ, Hong Z. Mechanism of action of ribavirin in the combination treatment of chronic HCV infection. *Hepatology.* 2002 May;35(5):1002-9.
99. Proceedings of the consensus conference on hepatitis C. april 21-22, 2004. edinburgh, united kingdom. *J Viral Hepat.* 2004 Sep;11 Suppl 1:1-39.
100. Toniutto P, Fabris C, Bitetto D, Fornasiere E, Rapetti R. Updates on antiviral therapy for chronic hepatitis C. *Discov Med.* 2007 Feb;7(37):27-32.
101. Jacobson IM, Brown RS,Jr, McCone J, Black M, Albert C, Dragutsky MS, et al. Impact of weight-based ribavirin with peginterferon alfa-2b in african americans with hepatitis C virus genotype 1. *Hepatology.* 2007 Oct;46(4):982-90.

102. Idrees M, Riazuddin S. A study of best positive predictors for sustained virologic response to interferon alpha plus ribavirin therapy in naive chronic hepatitis C patients. *BMC Gastroenterol.* 2009 Jan 20;9:5,230X-9-5.
103. Rosen HR. Clinical practice. chronic hepatitis C infection. *N Engl J Med.* 2011 Jun 23;364(25):2429-38.
104. Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, Di Bisceglie AM, Reddy KR, Bzowej NH, et al. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2011 Jun 23;364(25):2405-16.
105. Poordad F, McCone J,Jr, Bacon BR, Bruno S, Manns MP, Sulkowski MS, et al. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med.* 2011 Mar 31;364(13):1195-206.
106. Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB, American Association for Study of Liver Diseases. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the american association for the study of liver diseases. *Hepatology.* 2011 Oct;54(4):1433-44.
107. McHutchison JG, Poynard T, Esteban-Mur R, Davis GL, Goodman ZD, Harvey J, et al. Hepatic HCV RNA before and after treatment with interferon alone or combined with ribavirin. *Hepatology.* 2002 Mar;35(3):688-93.
108. Castillo I, Rodriguez-Inigo E, Lopez-Alcorocho JM, Pardo M, Bartolome J, Carreno V. Hepatitis C virus replicates in the liver of patients who have a sustained response to antiviral treatment. *Clin Infect Dis.* 2006 Nov 15;43(10):1277-83.
109. Maylin S, Martinot-Peignoux M, Moucari R, Boyer N, Ripault MP, Cazals-Hatem D, et al. Eradication of hepatitis C virus in patients successfully treated for chronic hepatitis C. *Gastroenterology.* 2008 Sep;135(3):821-9.
110. MacParland SA, Pham TN, Guy CS, Michalak TI. Hepatitis C virus persisting after clinically apparent sustained virological response to antiviral therapy retains infectivity in vitro. *Hepatology.* 2009 May;49(5):1431-41.
111. Welker MW, Zeuzem S. Occult hepatitis C: How convincing are the current data? *Hepatology.* 2009 Feb;49(2):665-75.
112. Maylin S, Martinot-Peignoux M, Ripault MP, Moucari R, Cardoso AC, Boyer N, et al. Sustained virological response is associated with clearance of hepatitis C virus RNA and a decrease in hepatitis C virus antibody. *Liver Int.* 2009 Apr;29(4):511-7.

113. Toyoda H, Kumada T, Kiriya S, Sone Y, Tanikawa M, Hisanaga Y, et al. Changes in hepatitis C virus (HCV) antibody status in patients with chronic hepatitis C after eradication of HCV infection by interferon therapy. *Clin Infect Dis*. 2005 Mar 15;40(6):e49-54.
114. Vento S, Concia E, Ferraro T. Lack of sustained efficacy of interferon in patients with chronic hepatitis C. *N Engl J Med*. 1996 May 30;334(22):1479-80.
115. Pham TN, MacParland SA, Mulrooney PM, Cooksley H, Naoumov NV, Michalak TI. Hepatitis C virus persistence after spontaneous or treatment-induced resolution of hepatitis C. *J Virol*. 2004 Jun;78(11):5867-74.
116. George SL, Bacon BR, Brunt EM, Mihindukulasuriya KL, Hoffmann J, Di Bisceglie AM. Clinical, virologic, histologic, and biochemical outcomes after successful HCV therapy: A 5-year follow-up of 150 patients. *Hepatology*. 2009 Mar;49(3):729-38.
117. Chavalitdhamrong D, Tanwandee T. Long-term outcomes of chronic hepatitis C patients with sustained virological response at 6 months after the end of treatment. *World J Gastroenterol*. 2006 Sep 14;12(34):5532-5.
118. Lau DT, Kleiner DE, Ghany MG, Park Y, Schmid P, Hoofnagle JH. 10-year follow-up after interferon-alpha therapy for chronic hepatitis C. *Hepatology*. 1998 Oct;28(4):1121-7.
119. van der Meer AJ, Veldt BJ, Feld JJ, Wedemeyer H, Dufour JF, Lammert F, et al. Association between sustained virological response and all-cause mortality among patients with chronic hepatitis C and advanced hepatic fibrosis. *JAMA*. 2012 Dec 26;308(24):2584-93.
120. Marcellin P, Boyer N, Gervais A, Martinot M, Pouteau M, Castelnau C, et al. Long-term histologic improvement and loss of detectable intrahepatic HCV RNA in patients with chronic hepatitis C and sustained response to interferon-alpha therapy. *Ann Intern Med*. 1997 Nov 15;127(10):875-81.
121. Shiratori Y, Imazeki F, Moriyama M, Yano M, Arakawa Y, Yokosuka O, et al. Histologic improvement of fibrosis in patients with hepatitis C who have sustained response to interferon therapy. *Ann Intern Med*. 2000 Apr 4;132(7):517-24.
122. Toccaceli F, Laghi V, Capurso L, Koch M, Sereno S, Scuderi M, et al. Long-term liver histology improvement in patients with chronic hepatitis C and sustained response to interferon. *J Viral Hepat*. 2003 Mar;10(2):126-33.

123. Poynard T, McHutchison J, Manns M, Trepo C, Lindsay K, Goodman Z, et al. Impact of pegylated interferon alfa-2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2002 May;122(5):1303-13.
124. Pearlman BL, Traub N. Sustained virologic response to antiviral therapy for chronic hepatitis C virus infection: A cure and so much more. *Clin Infect Dis*. 2011 Apr 1;52(7):889-900.
125. Desmet VJ, Roskams T. Cirrhosis reversal: A duel between dogma and myth. *J Hepatol*. 2004 May;40(5):860-7.
126. Camma C, Di Bona D, Schepis F, Heathcote EJ, Zeuzem S, Pockros PJ, et al. Effect of peginterferon alfa-2a on liver histology in chronic hepatitis C: A meta-analysis of individual patient data. *Hepatology*. 2004 Feb;39(2):333-42.
127. Mallet V, Gilgenkrantz H, Serpaggi J, Verkarre V, Vallet-Pichard A, Fontaine H, et al. Brief communication: The relationship of regression of cirrhosis to outcome in chronic hepatitis C. *Ann Intern Med*. 2008 Sep 16;149(6):399-403.
128. Pol S, Carnot F, Nalpas B, Lagneau JL, Fontaine H, Serpaggi J, et al. Reversibility of hepatitis C virus-related cirrhosis. *Hum Pathol*. 2004 Jan;35(1):107-12.
129. Bonkovsky HL, Snow KK, Malet PF, Back-Madruga C, Fontana RJ, Sterling RK, et al. Health-related quality of life in patients with chronic hepatitis C and advanced fibrosis. *J Hepatol*. 2007 Mar;46(3):420-31.
130. Veldt BJ, Heathcote EJ, Wedemeyer H, Reichen J, Hofmann WP, Zeuzem S, et al. Sustained virologic response and clinical outcomes in patients with chronic hepatitis C and advanced fibrosis. *Ann Intern Med*. 2007 Nov 20;147(10):677-84.
131. Bruno S, Stroffolini T, Colombo M, Bollani S, Benvegna L, Mazzella G, et al. Sustained virological response to interferon-alpha is associated with improved outcome in HCV-related cirrhosis: A retrospective study. *Hepatology*. 2007 Mar;45(3):579-87.
132. Fernandez-Rodriguez CM, Alonso S, Martinez SM, Forns X, Sanchez-Tapias JM, Rincon D, et al. Peginterferon plus ribavirin and sustained virological response in HCV-related cirrhosis: Outcomes and factors predicting response. *Am J Gastroenterol*. 2010 Oct;105(10):2164,72; quiz 2173.
133. Shiratori Y, Ito Y, Yokosuka O, Imazeki F, Nakata R, Tanaka N, et al. Antiviral therapy for cirrhotic hepatitis C: Association with reduced hepatocellular carcinoma development and improved survival. *Ann Intern Med*. 2005 Jan 18;142(2):105-14.

134. Singal AK, Singh A, Jaganmohan S, Guturu P, Mummadi R, Kuo YF, et al. Antiviral therapy reduces risk of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus-related cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2010 Feb;8(2):192-9.
135. Veldt BJ, Saracco G, Boyer N, Camma C, Bellobuono A, Hopf U, et al. Long term clinical outcome of chronic hepatitis C patients with sustained virological response to interferon monotherapy. *Gut*. 2004 Oct;53(10):1504-8.
136. Deuffic-Burban S, Deltenre P, Buti M, Stroffolini T, Parkes J, Muhlberger N, et al. Predicted effects of treatment for HCV infection vary among european countries. *Gastroenterology*. 2012 Oct;143(4):974,85.e14.
137. Giannini EG, Basso M, Savarino V, Picciotto A. Sustained virological response to pegylated interferon and ribavirin is maintained during long-term follow-up of chronic hepatitis C patients. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010 Feb 15;31(4):502-8.
138. Formann E, Steindl-Munda P, Hofer H, Jessner W, Bergholz U, Gurguta C, et al. Long-term follow-up of chronic hepatitis C patients with sustained virological response to various forms of interferon-based anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006 Feb 15;23(4):507-11.
139. Codes L, Asselah T, Cazals-Hatem D, Tubach F, Vidaud D, Parana R, et al. Liver fibrosis in women with chronic hepatitis C: Evidence for the negative role of the menopause and steatosis and the potential benefit of hormone replacement therapy. *Gut*. 2007 Mar;56(3):390-5.
140. Coverdale SA, Khan MH, Byth K, Lin R, Weltman M, George J, et al. Effects of interferon treatment response on liver complications of chronic hepatitis C: 9-year follow-up study. *Am J Gastroenterol*. 2004 Apr;99(4):636-44.
141. Papastergiou V, Stampori M, Lisgos P, Pselas C, Prodromidou K, Karatapanis S. Durability of a sustained virological response, late clinical sequelae, and long-term changes in aspartate aminotransferase to the platelet ratio index after successful treatment with peginterferon/ribavirin for chronic hepatitis C: A prospective study. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2013 Jul;25(7):798-805.
142. Poynard T, McHutchison J, Goodman Z, Ling MH, Albrecht J. Is an "a la carte" combination interferon alfa-2b plus ribavirin regimen possible for the first line treatment in patients with chronic hepatitis C? the ALGOVIRC project group. *Hepatology*. 2000 Jan;31(1):211-8.
143. Martinot-Peignoux M, Marcellin P, Pouteau M, Castelnau C, Boyer N, Poliquin M, et al. Pretreatment serum hepatitis C virus RNA levels and hepatitis C virus genotype

are the main and independent prognostic factors of sustained response to interferon alfa therapy in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 1995 Oct;22(4 Pt 1):1050-6.

144. Lin R, Roach E, Zimmerman M, Strasser S, Farrell GC. Interferon alfa-2b for chronic hepatitis C: Effects of dose increment and duration of treatment on response rates. results of the first multicentre australian trial. australia hepatitis C study group. *J Hepatol*. 1995 Nov;23(5):487-96.

145. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Shiffman ML, Lee WM, Rustgi VK, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. hepatitis interventional therapy group. *N Engl J Med*. 1998 Nov 19;339(21):1485-92.

146. Lindsay KL, Trepo C, Heintges T, Shiffman ML, Gordon SC, Hoefs JC, et al. A randomized, double-blind trial comparing pegylated interferon alfa-2b to interferon alfa-2b as initial treatment for chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2001 Aug;34(2):395-403.

147. Tassopoulos NC, Karvountzis G, Touloumi G, Delladetsima JK, Papatheodoridis GV, Katsoulidou A, et al. Comparative efficacy of a high or low dose of interferon alpha 2b in chronic hepatitis C: A randomized controlled trial. *Am J Gastroenterol*. 1996 Sep;91(9):1734-8.

148. Hakozaiki Y, Shirahama T, Katou M, Nakagawa K, Oba K, Mitamura K. A controlled study to determine the optimal dose regimen of interferon-alpha 2b in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol*. 1995 Aug;90(8):1246-9.

149. Lindsay KL, Davis GL, Schiff ER, Bodenheimer HC, Balart LA, Dienstag JL, et al. Response to higher doses of interferon alfa-2b in patients with chronic hepatitis C: A randomized multicenter trial. hepatitis interventional therapy group. *Hepatology*. 1996 Nov;24(5):1034-40.

150. Reichard O, Schvarcz R, Weiland O. Therapy of hepatitis C: Alpha interferon and ribavirin. *Hepatology*. 1997 Sep;26(3 Suppl 1):108S-11S.

151. McHutchison JG, Manns M, Patel K, Poynard T, Lindsay KL, Trepo C, et al. Adherence to combination therapy enhances sustained response in genotype-1-infected patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2002 Oct;123(4):1061-9.

152. Carithers RL, Jr, Emerson SS. Therapy of hepatitis C: Meta-analysis of interferon alfa-2b trials. *Hepatology*. 1997 Sep;26(3 Suppl 1):83S-8S.

153. Reichard O, Norkrans G, Fryden A, Braconier JH, Sonnerborg A, Weiland O. Randomised, double-blind, placebo-controlled trial of interferon alpha-2b with and

without ribavirin for chronic hepatitis C. the swedish study group. *Lancet*. 1998 Jan 10;351(9096):83-7.

154. Ajello A, Freni MA, Spadaro A, Alessi N, Impellizzeri F, Consolo P, et al. Ten year follow-up of patients with chronic hepatitis C treated with interferon. *Hepatogastroenterology*. 1999 Jul-Aug;46(28):2447-50.

155. Giannini E, Fasoli A, Botta F, Testa E, Romagnoli P, Ceppa P, et al. Long-term follow up of chronic hepatitis C patients after alpha-interferon treatment: A functional study. *J Gastroenterol Hepatol*. 2001 Apr;16(4):399-405.

156. Yoshida H, Shiratori Y, Moriyama M, Arakawa Y, Ide T, Sata M, et al. Interferon therapy reduces the risk for hepatocellular carcinoma: National surveillance program of cirrhotic and noncirrhotic patients with chronic hepatitis C in japan. IHIT study group. inhibition of hepatocarcinogenesis by interferon therapy. *Ann Intern Med*. 1999 Aug 3;131(3):174-81.

157. Imazeki F, Yokosuka O, Fukai K, Saisho H. Favorable prognosis of chronic hepatitis C after interferon therapy by long-term cohort study. *Hepatology*. 2003 Aug;38(2):493-502.

158. Swain MG, Lai MY, Shiffman ML, Cooksley WG, Zeuzem S, Dieterich DT, et al. A sustained virologic response is durable in patients with chronic hepatitis C treated with peginterferon alfa-2a and ribavirin. *Gastroenterology*. 2010 Nov;139(5):1593-601.

159. Nikolaeva LI, Blokhina NP, Tsurikova NN, Voronkova NV, Miminoshvili MI, Braginsky DM, et al. Virus-specific antibody titres in different phases of hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat*. 2002 Nov;9(6):429-37.

160. Reichard O, Glaumann H, Fryden A, Norkrans G, Wejstal R, Weiland O. Long-term follow-up of chronic hepatitis C patients with sustained virological response to alpha-interferon. *J Hepatol*. 1999 May;30(5):783-7.

161. Scherzer TM, Reddy KR, W1rba F, Hofer H, Staufer K, Steindl-Munda P, et al. Hepatocellular carcinoma in long-term sustained virological responders following antiviral combination therapy for chronic hepatitis C. *J Viral Hepat*. 2008 Sep;15(9):659-65.

162. Yamashita N, Ohho A, Yamasaki A, Kurokawa M, Kotoh K, Kajiwara E. Hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis C patients achieving a sustained virological response to interferon: Significance of lifelong periodic cancer screening for improving outcomes. *J Gastroenterol*. 2013 Dec 8.

163. Iwasaki Y, Takaguchi K, Ikeda H, Makino Y, Araki Y, Ando M, et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma in hepatitis C patients with sustained virologic response to interferon therapy. *Liver Int.* 2004 Dec;24(6):603-10.