

TRABAJOS ORIGINALES

Seguimiento a 5 años de pacientes con hepatitis crónica C y respuesta viral sostenida

I. Puig del Castillo¹, M. Miquel Planas^{1,2}, M. Vergara Gómez^{1,2}, A. Cebollero Agustí³,
M. Gallach Montero¹, B. Dalmau Obrador^{1,2}, M. Gil Prades^{1,2}, M. Casas Rodrigo¹,
J. Sánchez Delgado^{1,2}, R. Tomás Tutusaus³ y A. Gavarró Puig³

¹Servicio de Digestivo. Hospital de Sabadell. Institut Universitari Parc Taulí. Departament de Medicina. Universitat Autònoma de Barcelona. Sabadell, Barcelona. ²CIBERehd. Instituto Carlos III. ³UDIAT. Corporació Sanitària Parc Taulí. Barcelona

RESUMEN

Objetivo: evaluar la persistencia de respuesta viral sostenida a los 5 años de seguimiento en pacientes con hepatitis crónica por virus C tratados con interferón pegilado y ribavirina.

Diseño: estudio descriptivo.

Pacientes: desde agosto de 2001 hasta mayo de 2004, se incluyeron de forma consecutiva todos los pacientes de nuestro centro tratados con interferón pegilado y ribavirina que alcanzaron respuesta viral sostenida (93 pacientes). Se recogieron datos demográficos, histológicos, bioquímicos y virológicos durante el tratamiento y a los 5 años de haber obtenido la respuesta viral sostenida. Se presentaron a la visita de control a los 5 años un 86% de los pacientes incluidos (n = 80).

Resultados: los pacientes incluidos presentaron una edad media de 41 años (desviación estándar = 10 años); mujeres 30,1% (n = 28). En el 68,8% de los pacientes (n=64) se había realizado biopsia hepática previa al tratamiento, que mostraba ausencia de fibrosis o fibrosis leve en un 62,3% (F0 y F1) y fibrosis significativa o cirrosis en un 37,7% (F≥3). La distribución por genotipos fue: 58,1% genotipo 1 (n = 54); 8,6% genotipo 2 (n = 8); 24,7% genotipo 3 (n = 23); 7,5% genotipo 4 (n = 7) e indeterminado en un caso. Sólo uno de los pacientes presentó recurrencia virológica. El resto de pacientes presentaron niveles de ARN-VHC negativo y, en ausencia de otra hepatopatía, niveles de ALT normales.

Conclusión: en pacientes tratados con interferón pegilado y ribavirina con respuesta viral sostenida la tasa de recurrencia a largo plazo es muy baja.

Palabras clave: Hepatitis crónica C. Interferón pegilado alfa-2a. Interferón pegilado alfa-2b. Ribavirina.

ABSTRACT

Objective: to assess persistence of sustained viral response at 5 years of follow-up in patients with chronic viral hepatitis C treated with pegylated interferon and ribavirin.

Design: a descriptive study.

Patients: from August 2001 to May 2004, all patients treated at our center with pegylated interferon and ribavirin who achieved a sustained viral response were consecutively enrolled (93 patients). Demographic, histological, biochemical, and virological data were collected during treatment and 5 years after achievement of the sustained viral response. Eighty-six percent of patients enrolled (n = 80) attended the control visit at 5 years.

Results: mean age of enrolled patients was 41 years (standard deviation = 10 years), and 30.1% (n = 28) were women. Liver biopsy had been performed before treatment in 68.8% of patients (n = 64), showing no or mild fibrosis in 62.3% (F0 and F1) and significant fibrosis and cirrhosis in 37.7% (F ≥ 3). Genotype distribution was: 58.1% genotype 1 (n = 54); 8.6% genotype 2 (n = 8); 24.7% genotype 3 (n = 23); 7.5% genotype 4 (n = 7), and indeterminate in one patient. Only one patient experienced virological recurrence. All other patients had negative HCV RNA levels and, in the absence of other liver diseases, normal ALT levels.

Conclusion: in patients treated with pegylated interferon and ribavirin with sustained viral response, long-term recurrence rate was very low.

Key words: Chronic C hepatitis. Pegylated interferon alfa-2a. Pegylated interferon alfa-2b. Ribavirin.

Recibido: 17-05-10.
Aceptado: 27-07-10.

Correspondencia: Mireia Miquel Planas. Hospital de Sabadell. Corporació Sanitària Parc Taulí. Institut Universitari Parc Taulí, Universitat Autònoma de Barcelona. Parc Taulí, s/n. 08208 Sabadell, Barcelona.
e-mail: mmiuel@tauli.cat

Puig del Castillo I, Miquel Planas M, Vergara Gómez M, Cebollero Agustí A, Gallach Montero M, Dalmau Obrador B, Gil Prades M, Casas Rodrigo M, Sánchez Delgado J, Tomás Tutusaus R, Gavarró Puig A. Seguimiento a 5 años de pacientes con hepatitis crónica C y respuesta viral sostenida. Rev Esp Enferm Dig 2011; 103: 56-61.

INTRODUCCIÓN

La hepatitis crónica por virus C es un problema de salud mundial. En la actualidad, se estima que 170 millones de personas están infectadas. En nuestro medio, la prevalencia de la hepatitis C es de aproximadamente un 1,6-2,6% de la población, lo que significa que en nuestro país puede haber entre 480.000 y 760.000 personas infectadas (1). En la actualidad, es la causa más frecuente de cirrosis hepática, hepatocarcinoma y trasplante hepático (2).

Por el momento, el único tratamiento claramente efectivo para atenuar o invertir la fibrosis hepática es la eliminación del agente causal (3). El tratamiento disponible para la curación de la infección consiste en la combinación de interferón pegilado (IFN-peg) y ribavirina (RBV) durante un período que oscila entre 24-72 semanas. Se considera que un tratamiento es exitoso si alcanza la respuesta viral sostenida (RVS), que se define como la negatividad del ARN-VHC seis meses después de finalizado el tratamiento (4,5). Estos pacientes reducen no solo el riesgo de progresión de la fibrosis, la incidencia de cirrosis y carcinoma hepatocelular (6,7), sino que pueden presentar una mejoría histológica con la disminución del grado de inflamación, estabilización e incluso mejora del grado de fibrosis a largo plazo (8-10). Las tasas de RVS obtenidas oscilan entre un 54-56% en los ensayos clínicos (11-13), siendo unos resultados reproducibles en nuestro medio en la práctica clínica habitual (14).

Sin embargo, los datos de los que se dispone del seguimiento a largo plazo una vez obtenida la RVS son escasos en la literatura, pero crecientes en los últimos años (Tabla I). El mantenimiento de la respuesta viral sostenida a los 5 años en pacientes tratados con IFN monoterapia y IFN+RBV es del 95% (4,15) y 98-100% (10,16) respectivamente. En los pacientes tratados IFN-peg+RBV, el mantenimiento de la RVS a los 4 años es del 99-100% (17-19). Si bien estos estudios muestran unos resultados muy favorables, existen otros estudios que incluyen pacientes no naïve o utilizan técnicas de detección del ARN-VHC no convencionales que muestran tasas superiores de recurrencia virológica tardía (20,21). Sin embargo, no hay estudios en nuestro medio que evalúen la tasa de recurrencia virológica tras la RVS.

En este artículo, para una adecuada interpretación de los resultados, se ha adoptado la terminología propuesta por Sánchez Tapias (22). Recurrencia hace referencia a la detección del ARN-VHC en suero por una técnica comercialmente disponible en un paciente una vez obtenida la RVS. El término recidiva se usa comúnmente para referirse a la detección del ARN-VHC dentro de los 6 primeros meses después de finalizar el tratamiento. Así que recurrencia y recidiva tardía se utilizan en un mismo sentido. Sin embargo, a diferencia de recidiva tardía, la recurrencia no implica necesariamente que reaparece el virus original, sino que podría deberse también a una reinfección o a un falso negativo en el momento de considerarlo como RVS.

El objetivo de nuestro estudio es analizar la persistencia de la RVS en los pacientes tratados con IFN-peg y RBV al menos cinco años después de finalizado el tratamiento.

MÉTODOS

Pacientes

Criterios de inclusión en el estudio

Se incluyeron en el estudio todos los pacientes monoinfectados tratados con IFN-peg y RBV entre agosto del 2001 y mayo de 2004 y que habían alcanzado una RVS.

Pautas de tratamiento

Los pacientes fueron tratados de acuerdo con las pautas de tratamiento establecidas en las guías de práctica clínica (23). Los pacientes con genotipo 1 o 4 recibieron tratamiento con IFN-peg alfa 2a (180 mcg/semana) o IFN-peg alfa 2b (1,5 mcg/Kg/semana) y RBV (ajustada a peso) durante 48 semanas. Los pacientes con genotipo 2 y 3 fueron tratados durante 24 semanas con la misma pauta de IFN-peg alfa 2a o alfa 2b, pero con 800 mg de RBV al día repartida en dos dosis. El tipo de IFN-peg utilizado para cada paciente fue decidido por el propio médico responsable del mismo.

Seguimiento post tratamiento

En nuestro centro, los pacientes que alcanzan una RVS después del tratamiento y presentan un grado de fibrosis leve (F0 y F1) por biopsia o no tienen criterios de fibrosis avanzada por criterios no invasivos (24,25) son remitidos al médico de familia para continuar los controles, de acuerdo a un protocolo consensuado. Se realiza una analítica anual que incluye la determinación de la función hepática (AST/ALT, FA/GGT y bilirrubina) durante 5 años. Al cabo de cinco años de la RVS, el paciente es remitido nuevamente a nuestra consulta externa de hepatología para una nueva determinación del ARN-VHC. Si durante el seguimiento, el médico de familia detecta alguna alteración de la biología hepática, se remite nuevamente a las consultas de hepatología para valorar la causa de dicha alteración. Los pacientes con fibrosis avanzada por biopsia o por criterios no invasivos son controlados en la consulta de hepatología. A los 5 años, los pacientes que no han sido remitidos se citan mediante una carta.

Recogida de datos

Se recogieron las características demográficas, tratamiento realizado, grado de fibrosis previo al tratamiento

Tabla I. Estudios que reportan tasa de recurrencia virológica a largo plazo en pacientes con RVS

Autor	Pacientes y condición previa al tratamiento	Tratamiento (n)	Tiempo de seguimiento	Tasa de recurrencia virológica
Cammà C et al (4)	453 pacientes naïve (meta-análisis con 14 estudios prospectivos)	IFN	>18 meses (rango 18-93)	8,7%
Ciancio et al (20)	97 no respondedores	IFN (3MU/3semanas)+RBV (1.000mg/día), 12 meses (21) IFN (5MU/3semanas)+RBV (1.000mg/día), 12 meses (37) IFN (3MU/3semanas)+RBV (1.000mg/día), 6 meses (15) IFN (5MU/3semanas)+RBV (1.000mg/día), 6 meses (24)	7,17 años (media)	0% 13,5% 20% 12,5%
Desmond et al (33)	147 pacientes naïve	IFN (34) IFN+RBV (76) IFN-peg+RBV (37)	2,3 años (media)	3% 0% 0%
Formann et al (34)	187 pacientes (CPND)	IFN (12) IFN+RBV (73) IFN-peg+RBV (102)	1,83 años (media)	0%
Fontaine et al (35)	34 pacientes naïve 7 pacientes con recidiva 3 pacientes no respondedores	IFN+RBV	1,72 años (media)	2,3%
George et al (10)	150 pacientes (CPND)	IFN+RBV (146) IFN-peg+RBV (4)	5 años	0%
Giannini et al (17)	171 pacientes naïve 60 pacientes no naïve	IFN-peg+RBV (231)	3,15 años (media)	1%
Kelly et al (16)	42 pacientes pediátricos	IFN+RBV	5 años	2%
Khokhar et al (36)	57 pacientes (CPND)	IFN+RBV	1,97 años (media)	8,77%
Manns et al (37)	366 pacientes (CPND)	IFN-peg±RBV	4,8 años (media)	1%
Maylin et al (19)	94 pacientes naïve 26 pacientes no respondedores 37 pacientes con recidiva	IFN (12) IFN+RBV (24) IFN-peg+RBV (121)	4 años (media)	0%
McHutchison et al (38)	302 pacientes (CPND)	IFN±RBV	5 años	0±1%
Moreno et al (39)	132 pacientes (CPND)	IFN/IFN-peg±RBV	>1 año	0%
Ponsoda et al (40)	125 (CPND)	IFN±RBV	1,7 (años)	0%
Soriano et al (41)	77 pacientes HIV+	IFN (22) IFN+RBV (17) IFN-peg+RBV (38)	4,8 años (media)	0%
Swain et al (18)	400 pacientes (CPND)	IFN-peg (160) IFN-peg+RBV (240)	4 años	0,8%
Veldt et al (15)	286 pacientes naïve	IFN	5 años	4,7%

CPND: condición previa no descrita.

Tasa de recurrencia virológica: detección del ARN-VHC en pacientes con RVS

(de acuerdo con el índice de Knodell) (26), genotipo, niveles de ALT y carga viral (ARN-VHC UI/ml) al iniciar y al finalizar el tratamiento. En la visita realizada a los 5 años por un especialista se incluyeron los siguientes parámetros analíticos: biología hepática (ALT, AST, bilirrubina, FA, GGT y albúmina) y el ARN-VHC. Si presentaron hipertransaminasemia se realizó un estudio etiológico analítico (serología viral, autoanticuerpos, ceruloplasmina, alfa1-antitripsina, TSH; metabolismo del hierro) y

ecográfico de acuerdo con las causas más frecuentes en nuestro medio (27).

Detección de ARN-VHC

Para la realización de este estudio se utilizaron dos técnicas. En la primera fase del estudio, durante el tratamiento de los pacientes, para las determinaciones del ARN se

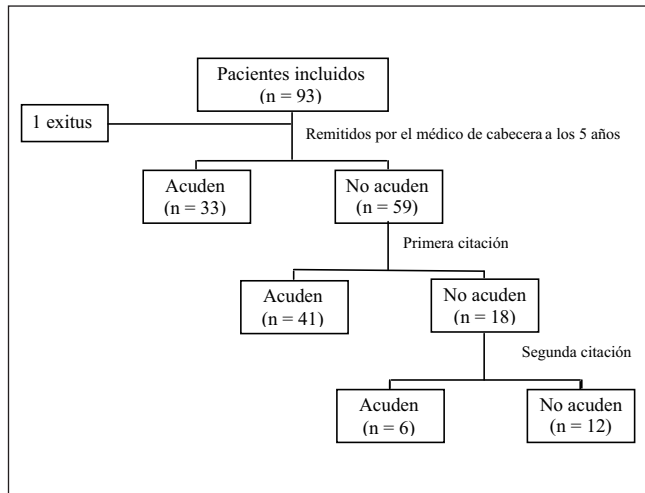


Fig. 1. Esquema de inclusión de los pacientes.

utilizó la técnica Cobas Amplicor, con extracción manual del ARN y posterior amplificación y detección en un analizador Cobas Monitor (Roche Diagnostics) con un límite de detección de < 600 UI/ml.

En la segunda fase, en el seguimiento a los cinco años, se utilizó la prueba Cobas Ampliprep/Cobas Taqman HCV (Roche Diagnostics), que es una prueba de amplificación in vitro de ácidos nucleicos a tiempo real para la determinación cuantitativa del ARN del VHC en plasma o suero (el instrumento Cobas Ampliprep para el procesamiento automatizado de la muestra y el analizador Cobas Taqman para la amplificación y posterior detección del ARN automatizadas). La prueba Cobas Ampliprep/Cobas Taqman permite la preparación automatizada de la muestra (aislamiento del ARN), seguido de una transcripción reversa, la amplificación mediante PCR y la detección del ARN también automatizadas. El límite de detección de la técnica es de 15 UI/mL.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con la base de datos SPSS 15.0. Las variables continuas se presentan como media (desviación estándar) (DE).

RESULTADOS

Características de los pacientes incluidos

Desde junio de 2007 hasta noviembre 2009, se incluyeron un total de 93 pacientes que habían obtenido RVS tras el tratamiento con IFN-peg y RBV al menos 5 años antes. La edad media al inicio del tratamiento fue de 41 años (DE = 10 años); el 30,1% (n = 28) fueron mujeres.

Evolución clínica y virológica a los 5 años

De los 93 pacientes incluidos, se presentaron al control remitidos por el médico de cabecera el 41,25% (n = 33). Un paciente falleció por causas no relacionadas con su hepatopatía. Tras una primera citación acudieron el 68,3% (n = 41) de los 59 pacientes citados y tras una segunda citación el 31,6% (n = 6) de los 18 pacientes que no acudieron previamente. Finalmente, se visitaron a los 5 años 80 pacientes (Fig. 1).

Los niveles basales de ALT antes de iniciar el tratamiento antiviral fueron de 114 UI/mL (DE = 67 UI/mL) (valor normal < 39 UI/mL). El ARN-VHC inicial fue de 465.497 UI/mL (DE = 272.070 UI/mL). En el 68,8% de los pacientes (n = 64) se había realizado biopsia hepática previa al tratamiento, que mostraba ausencia de fibrosis o fibrosis leve en un 62,3% (F0 y F1) y fibrosis significativa o cirrosis en un 37,7% (F ≥ 3). La distribución por genotipos fue: 58,1% genotipo 1 (n = 54); 8,6% genotipo 2 (n = 8); 24,7% genotipo 3 (n = 23); 7,5% genotipo 4 (n = 7) e indeterminado en un caso.

A los 5 años de obtenida la RVS, los niveles de ALT fueron de 25 UI/mL (DE = 13 UI/mL). Siete pacientes (8,7%) presentaron niveles de ALT superiores a los valores de normalidad (< 39UI/mL), con una media de 55,2 UI/mL (DE = 9,56 UI/mL) (rango 43-68 UI/mL). Dos de ellos normalizaron las transaminasas al repetir la analítica para realizar el estudio etiológico. De los cinco restantes, cuatro tenían un índice de masa corporal mayor de 25. De estos cuatro pacientes, tres presentaron un estudio etiológico analítico negativo y una ecografía hepática con signos de esteatosis y el cuarto paciente se perdió en el seguimiento. Sólo un paciente (de los siete iniciales con hipertransaminemia) presentó una carga viral sérica detectable. Se determinó el genotipo que coincidió con el que tenía previamente a realizar el tratamiento (ARN 8.314.619 UI/mL, genotipo 1, ALT 42 UI/mL). Los pacientes con fibrosis avanzada o cirrosis que presentaron RVS controlados por nuestra Unidad no presentaron ninguna descompensación a lo largo de los cinco años de seguimiento.

DISCUSIÓN

Este estudio muestra como en nuestra área en la práctica totalidad de los pacientes con respuesta viral sostenida se mantiene la negatividad del ARN-VHC. Tan sólo se ha detectado un caso de recurrencia virológica una vez obtenida la RVS (1,25%).

En referencia a la perdurabilidad de la RVS los datos publicados hasta la actualidad demuestran que ésta produce un efecto positivo en los pacientes que la presentan. Así, se ha demostrado que de los pacientes con cirrosis hepática que obtienen una RVS, un porcentaje presentan regresión histológica de la cirrosis (8-10,28). En nuestro estudio ningún paciente cirrótico se ha descompensado

de su hepatopatía. No obstante, una limitación evidente de nuestro estudio es que no se han recogido muestras histológicas de los pacientes incluidos durante el período de seguimiento tras la RVS.

Una gran fuente de controversia es si la RVS lleva a la erradicación del virus y por lo tanto no son necesarios sucesivos controles virológicos. Las cuestiones cruciales en este aspecto son las técnicas para la determinación del ARN-VHC y la forma de determinarlo (en tejido hepático, en células mononucleares periféricas o en sangre periférica).

En cuanto a la sensibilidad de las diferentes técnicas utilizadas para considerarlo como RVS, en nuestro estudio se empleó inicialmente un sistema con un nivel de detección relativamente alto (< 600UI/ml) y por tanto con menor sensibilidad. Posteriormente, el control que se ha obtenido a los cinco años se ha realizado con una técnica de PCR a tiempo real con una mayor sensibilidad (< 15UI/ml).

Este hecho, abre la posibilidad a pensar que el paciente con recurrencia virológica no se trate de una verdadera recidiva tardía por la misma cepa, si no que sea un falso negativo en el momento de valorar la RVS (no detección de viremia mínima residual). Por otro lado, menos probable sería una reinfección ya que, aunque no disponemos de seroteca para realizar un estudio filogenético de ambos ARN, coincide el mismo genotipo, se revisó la historia clínica y se reinterrogó al paciente sin evidenciar datos epidemiológicos que le confirieran un riesgo de reinfección.

Así, en referencia a las diferentes técnicas de determinación del ARN, se han descrito otros métodos con una mayor sensibilidad. En un estudio sugieren que la amplificación mediada de la transcripción (TMA) es superior a la PCR en detectar mínima viremia residual (29). Otro grupo sugiere que se podría predecir una recurrencia virológica tardía, si los sueros son reanalizados haciendo una ultracentrifugación previa a la PCR (21). En su estudio, en 13 pacientes con recurrencia virológica tras obtener RVS, obtuvo los sueros previos con carga viral indetectable con técnicas convencionales y realizó una ultracentrifugación previa a la PCR detectando niveles de ARN-VHC en 11 de ellos. Esto sugiere que si se dispone de una técnica suficientemente sensible, los controles virológicos se puedan finalizar una vez alcanzada la RVS.

En cuanto a la forma de determinar el ARN-VHC, disponemos de estudios que detectan la presencia del ARN-VHC en células mononucleares y tejido hepático tras la RVS (8,9,30-32). Así pues, Castillo y cols. (31) estudian a 20 pacientes con RVS seguidos una media de 47 meses y detectan el ARN-VHC en tejido hepático en 19 de ellos, en células mononucleares periféricas en 13 pacientes y en plasma en ninguno de ellos. En este sentido, algunos autores han sugerido el concepto de infección subclínica. Ésta se define como la detección del VHC en cualquier tejido por cualquier técnica en pacientes considerados como RVS por las técnicas de determinación del ARN-

VHC comercialmente disponibles (22). Sin embargo, su significado es aún incierto y hasta el momento se desconoce la trascendencia clínica.

Por otro lado, respecto a los pacientes que a los 5 años presentaron hipertransaminasemia persistente con ARN-VHC negativo, tras un estudio etiológico exhaustivo, la mayoría tenía criterios de esteatosis hepática.

En conclusión, el estudio sugiere que en nuestro medio, los pacientes tratados con IFN-peg + RBV con RVS la tasa de recurrencia a largo plazo es muy baja.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bruguera M, Forns X. Hepatitis C in Spain. *MedClin(Barc)*. 2006; 127: 113-7.
2. Dienstag JL, McHutchison JG. American Gastroenterological Association technical review on the management of hepatitis C. *Gastroenterology*. 2006; 130: 231-64.
3. Dominguez M, Colmenero J, Bataller R. Treatment of liver fibrosis. *GastroenterolHepatol*. 2009; 32: 627-32.
4. Camma C, Giunta M, Pinzello G, Morabito A, Verderio P, Pagliaro L. Chronic hepatitis C and interferon alpha: conventional and cumulative meta-analyses of randomized controlled trials. *Am J Gastroenterol*. 1999; 94: 581-95.
5. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology*. 2009; 49: 1335-74.
6. Poynard T, McHutchison J, Manns M, Trepo C, Lindsay K, Goodman Z, Ling MH, Albrecht J. Impact of pegylated interferon alfa-2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2002; 122: 1303-13.
7. Bruno S, Stroffolini T, Colombo M, Bollani S, Benvegna L, Mazzeola G, Ascione A, Santantonio T, Piccinino F, Andreone P, Mangia A, Gaeta GB, Persico M, Fagioli S, Almasio PL. Sustained virological response to interferon-alpha is associated with improved outcome in HCV-related cirrhosis: a retrospective study. *Hepatology*. 2007; 45: 579-87.
8. Marcellin P, Boyer N, Gervais A, Martinot M, Pouteau M, Castelnau C, Kilani A, Areias J, Auperin A, Benhamou JP, Degott C, Erlinger S. 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; 127: 875-81.
9. Maylin S, Martinot-Peignoux M, Moucari R, Boyer N, Ripault MP, Cazals-Hatem D, Giuily N, Castelnau C, Cardoso AC, Asselah T, Ferray C, Nicolas-Chanoine MH, Bedossa P, Marcellin P. Eradication of hepatitis C virus in patients successfully treated for chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2008; 135: 821-9.
10. 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; 49: 729-38.
11. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman M, Reindollar R, Goodman ZD, Koury K, Ling M, Albrecht JK. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomized trial. *Lancet* 2001; 358: 958-65.
12. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Goncales FL, Jr., Haussinger D, Diago M, Carosi G, Dhumeaux D, Craxi A, Lin A, Hoffman J, Yu J. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N.Engl.J.Med*. 2002; 347: 975-82.
13. Hadziyannis SJ, Sette H, Jr., Morgan TR, Balan V, Diago M, Marcellin P, Ramadori G, Bodenheimer H, Jr., Bernstein D, Rizzetto M, Zeuzem S, Pockros PJ, Lin A, Ackrill AM. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann.Intern.Med*. 2004; 140: 346-55.
14. Vergara M, Gallach M, Dalmau B, Gil M, Miquel M, Rudi N, Gavarro A, Cebollero A, Masip M, Real J. [Results of pegylated interferon

- and ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C in clinical practice: a 5-year experience]. *Gastroenterol.Hepatol.* 2008; 31: 274-9.
15. Veldt BJ, Saracco G, Boyer N, Camma C, Bellobuono A, Hopf U, Castillo I, Weiland O, Nevens F, Hansen BE, Schalm SW. Long term clinical outcome of chronic hepatitis C patients with sustained virological response to interferon monotherapy. *Gut* 2004; 53: 1504-8.
 16. Kelly D, Haber B, Gonzalez-Peralta RP, Murray KF, Jonas MM, Molleston JP, Narkewicz MR, Sinatra FR, Lang T, Lachaux A, Wirth S, Shelton M, Te HS, Pollack H, Deng W, Noviello S. Sustained virological response to interferon alfa-2b plus ribavirin predicts long-term clearance of HCV in pediatric patients at 5 year follow-up. *J of Hepatol.* 2008; 48: 298-9.
 17. 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.* 2009.
 18. Swain M, Lai MY, Shiffman ML et al. Treatment of patients with chronic hepatitis C (CHC) with peginterferon alfa-2a (40 KD) (Pegasys) alone or in combination with ribavirin (copegus) results in long-lasting sustained virological response. *J Hepatol* 2003; 38 (suppl 2), 175.
 19. Maylin S, Martinot-Peignoux M, Ripault MP, Moucari R, Cardoso AC, Boyer N, Giuily N, Castelnaud C, Pouteau M, Asselah T, Nicolas-Chanoine MH, Marcellin P. Sustained virological response is associated with clearance of hepatitis C virus RNA and a decrease in hepatitis C virus antibody. *Liver Int.* 2009; 29: 511-7.
 20. Ciancio A, Smedile A, Giordanino C, Colletta C, Croce G, Pozzi M, Cariti G, Macor A, Biglino A, Di NA, Tappero GF, Andreoni M, Manca A, Prandi G, Calleri G, Orsi PG, Ciccone G, Rizzetto M, Saracco G. Long-term follow-up of previous hepatitis C virus positive nonresponders to interferon monotherapy successfully retreated with combination therapy: are they really cured? *Am J Gastroenterol.* 2006; 101: 1811-6.
 21. Castillo I, Bartolome J, Quiroga JA, Barril G, Carreno V. Presence of HCV-RNA after ultracentrifugation of serum samples during the follow-up of chronic hepatitis C patients with a sustained virological response may predict reactivation of hepatitis C virus infection. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009; 30: 477-86.
 22. Sánchez Tapias J. Sustained virological response and clinical outcomes in chronic hepatitis C. In: Arroyo V, Abraldes JG, Sánchez Tapias JM, Fornis X, Bataller R, Rodés J, eds. *Treatment of liver disease.* 2009: 67-72.
 23. Consensus document of the Spanish Association for the Study of the Liver on the treatment of hepatitis B and C virus infections. *Gastroenterol Hepatol.* 2006; 29 Suppl 2: 216-30.
 24. Bejarano G, Vergara M, Dalmau B, Puig J, Bella MR, Suarez D, Calvet X. Prospective evaluation of liver fibrosis in chronic viral hepatitis C infection using the Sabadell NIHCED (Non-Invasive Hepatitis-C-Related Cirrhosis Early Detection) index. *Rev Esp Enferm Dig.* 2009; 101: 325-35.
 25. Obrador BD, Prades MG, Gomez MV, Domingo JP, Cueto RB, Rue M, Real J, Guiteras PM. A predictive index for the diagnosis of cirrhosis in hepatitis C based on clinical, laboratory, and ultrasound findings. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2006; 18: 57-62.
 26. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, Kiernan TW, Wollman J. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981; 1: 431-5.
 27. Cuadrado A, Crespo J. Hypertransaminasemia in patients with negative viral markers. *Rev Esp Enferm Dig.* 2004; 96: 484-500.
 28. Shiratori Y, Imazeki F, Moriyama M, Yano M, Arakawa Y, Yokosuka O, Kuroki T, Nishiguchi S, Sata M, Yamada G, Fujiyama S, Yoshida H, Omata M. Histologic improvement of fibrosis in patients with hepatitis C who have sustained response to interferon therapy. *Ann Intern Med.* 2000; 132: 517-24.
 29. Gerotto M, Dal PF, Bortoletto G, Ferrari A, Pistis R, Sebastiani G, Fagioli S, Realdon S, Alberti A. Hepatitis C minimal residual viremia (MRV) detected by TMA at the end of Peg-IFN plus ribavirin therapy predicts post-treatment relapse. *J Hepatol.* 2006; 44: 83-7.
 30. Radkowski M, Gallegos-Orozco JF, Jablonska J, Colby TV, Walewska-Zielecka B, Kubicka J, Wilkinson J, Adair D, Rakela J, Laskus T. Persistence of hepatitis C virus in patients successfully treated for chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2005; 41: 106-14.
 31. 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; 43: 1277-83.
 32. Gallegos-Orozco JF, Rakela J, Rosati MJ, Vargas HE, Balan V. Persistence of hepatitis C virus in peripheral blood mononuclear cells of sustained viral responders to pegylated interferon and ribavirin therapy. *Dig Dis Sci.* 2008; 53: 2564-8.
 33. Desmond CP, Roberts SK, Dudley F, Mitchell J, Day C, Nguyen S, Pianko S. Sustained virological response rates and durability of the response to interferon-based therapies in hepatitis C patients treated in the clinical setting. *J Viral Hepat.* 2006; 13: 311-5.
 34. Formann E, Steindl-Munda P, Hofer H, Jessner W, Bergholz U, Gurguta C, Ferenci P. 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; 23: 507-11.
 35. Fontaine H, Nalpas B, Lagneau JL, Zylberberg H, Bréchet C, Pol S. Histological and virological evolution of long term response after ribavirin and interferon- α combination. *Journal of Hepatology.* 2000; 32 (Supplement 2), 103..
 36. Khokhar N. Late relapse in chronic hepatitis C after sustained viral response to interferon and ribavirin. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 471-2.
 37. Manns M, Lindsay KL, Gordon SC, Pockros PJ, Haussinger D, Hadziyannis SJ, Schmidt W, Jacobson I, Barcena R, Schiff ER, Shaikh OS, Bacon BR, Marcellin P, Smith C, McHutchison JG, Deng W, Pedicone LD, Albrecht JK. Sustained virological response after peginterferon alfa-2b and ribavirin treatment predicts long-term clearance of HCV at 5-year follow-up. *Journal of Hepatology* 2008; 48 (Suppl2), S300.
 38. McHutchison JG, Shiffman ML, Gordon SC, Lindsay KL, Morgan TR, Norkrans G, Esteban-Mur, Poynard T, Nockros J, Albrecht JK, Brass C. Sustained virologic response (SVR) to interferon-alpha-2b +/- ribavirin therapy at 6 months reliably predicts long-term clearance of HCV at 5-year follow-up. *Journal Hepatol* 2006; 44(Suppl 2) 275.
 39. Moreno M, Perez-Alvarez R, Rodrigo L, Perez-Lopez R, Suarez-Leiva P. Long-term evolution of serum and liver viral markers in patients treated for chronic hepatitis C and sustained response. *J Viral Hepat.* 2006; 13: 28-33.
 40. Ponsoda P, Blanc P, Philippe G, Ramos J, Ducos J, Larrey D. Absence of long term relapse in patients with a good virological response at 6 months after treatment for chronic hepatitis C. *Journal of Hepatology* 36(Supplement 1), 125. 2002.
 41. Soriano V, Maida I, Nunez M, Garcia-Samaniego J, Barreiro P, Martín-Carbonero L, Gonzalez-Lahoz J. Long-term follow-up of HIV-infected patients with chronic hepatitis C virus infection treated with interferon-based therapies. *Antivir.Ther.* 2004; 9: 987-992.