

Nuevas perspectivas en el tratamiento de la hepatitis crónica por virus C

M. Buti

Servicio de Hepatología. Hospital General Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. Universidad Autónoma. Barcelona.

La hepatitis C es la causa más frecuente de hepatitis crónica en nuestro medio. Se calcula que aproximadamente 5 millones de personas están infectadas en la Unión Europea¹. De ellas, cerca de un 70% presentan una hepatitis crónica y entre un 15 y un 20% una cirrosis hepática^{2,3}. La hepatitis crónica C es, de forma característica, una enfermedad con escasa expresividad clínica, sólo en estadios avanzados pueden presentarse las manifestaciones propias de la enfermedad en forma de descompensación de la cirrosis o un hepatocarcinoma.

El tratamiento de la hepatitis crónica C va dirigido a erradicar la infección viral y, por tanto, a mejorar las lesiones hepáticas y a evitar la progresión de la enfermedad. Por tanto, el tratamiento estaría indicado en aquellos pacientes que presentan transaminasas elevadas, positividad de los anticuerpos anti-VHC y del ARN del VHC en el suero y lesiones de hepatitis crónica en la biopsia hepática. Son, por lo tanto, los pacientes que tienen más riesgo de desarrollar una enfermedad hepática progresiva y evolucionar a una cirrosis hepática^{2,3}.

Durante la década pasada, el único fármaco disponible para el tratamiento de la hepatitis crónica C era el interferón alfa. Los resultados de la terapia con interferón alfa fueron pobres, de manera que sólo entre el 15-20% de los pacientes tratados durante un año negativizaban el ARN-VHC, es decir, presentaban una respuesta virológica mantenida. Aproximadamente un 25% de los pacientes tratados respondían de forma transitoria, recidivando la enfermedad al suspender el tratamiento y la mayoría, un 50%, no respondían al tratamiento³. Se intentaron numerosas pautas de tratamiento utilizando dosis más altas de

interferón, dosis diarias o asociaciones con otros fármacos, sin conseguir modificar sustancialmente la respuesta. En los últimos 3 años, la combinación de interferón y ribavirina ha modificado el tratamiento de la hepatitis crónica C.

TRATAMIENTO ACTUAL DE LA HEPATITIS CRÓNICA C

El tratamiento actual de la hepatitis crónica C es la combinación de interferón y ribavirina. La ribavirina es un análogo sintético de los nucleósidos con actividad antiviral e inmunomoduladora. Es bien tolerado a excepción de que produce hemólisis y puede ser teratogénico. La pauta recomendada es la administración conjunta de interferón, 3 millones de unidades, 3 veces por semana, por vía subcutánea y ribavirina 1.000 a 1.200 mg al día por vía oral, dependiendo del peso corporal, durante 6 o 12 meses.

En pacientes *naïve* (previamente no tratados), el tratamiento combinado durante 6 meses consigue una respuesta sostenida del 33% y durante un año del 41%, frente al 6-12% observado con la monoterapia con interferón durante 6-12 meses⁴⁻⁶.

La respuesta al tratamiento combinado es distinta según el genotipo del VHC y el grado de viremia²⁻⁷. Los pacientes con genotipo 1 presentan una respuesta del 29% utilizando interferón y ribavirina durante un año, mientras que en los pacientes con infección por genotipo 2 o 3 la respuesta al tratamiento combinado durante 6 o 12 meses es la misma, del 65%. Es por ello que se recomienda que los pacientes con genotipo 1 sean tratados durante 12 meses, mientras que los pacientes infectados por genotipo 2 o 3, el tratamiento combinado durante 6 meses es suficiente, ya que los resultados son iguales a un año de tratamiento.

Otro factor predictivo de respuesta al tratamiento es la carga viral. En los pacientes con bajo grado de viremia, la administración de interferón y ribavirina durante 6 meses ofrece la misma eficacia que durante un año y, por tanto, en estos pacientes se aconseja el tratamiento com-

Correspondencia: Dra. M. Buti.
Servicio de Hepatología.
Hospital General Universitario Vall d'Hebron.
P.º Valle Hebrón, 117. 08035 Barcelona.
Correo electrónico: mbuti@hg.vhebron.es

Recibido el 26-3-2001; aceptado para su publicación el 29-3-2001.

(*Gastroenterol Hepatol* 2001; 24: 352-356)

binado durante 6 meses. En los pacientes con alto grado de viremia (más de 2.000.000 copias genómicas/ml), el tratamiento combinado durante un año ofrece unas tasas de respuesta más elevadas que durante 6 meses (48 frente a 28%); por tanto, estos casos se beneficiarían de tratamiento durante un año⁴⁻⁷. En nuestro medio, el genotipo 1 es el más frecuente, el 70% de los pacientes tratados están infectados por este genotipo. Además, más del 80% de los pacientes con genotipo 1 tiene altas cargas virales, por lo que son los pacientes más difíciles. Otros factores relacionados con la respuesta son el sexo, las mujeres responden mejor que los varones, la duración de la infección, el grado de fibrosis hepática y el peso del paciente⁷.

En general, la mayoría de los pacientes que consiguen una respuesta sostenida al tratamiento combinado normalizan las transaminasas y negativizan el ARN-VHC durante los primeros 6 meses de tratamiento, por lo que se recomienda suprimir el tratamiento a las 24 semanas en aquellos pacientes que persistan con ARN-VHC positivo. La respuesta virológica se mantiene durante un largo período de tiempo, superior a 10 años, como se comprueba en los estudios de seguimiento prolongado, y probablemente la persistencia de la respuesta virológica y histológica supone la curación de la enfermedad⁸⁻¹⁰.

Los efectos adversos del interferón y la ribavirina son en ocasiones una limitación o una contraindicación para el tratamiento. Algunos casos, alrededor de un 15% de los pacientes, precisan una reducción en la dosis de interferón como consecuencia de los efectos adversos y entre un 5 y un 10% de los pacientes es necesario interrumpir el tratamiento. Los efectos adversos asociados al interferón son muy frecuentes y aparecen al inicio del tratamiento, como la fiebre, la fatiga, el cansancio, la astenia, la irritabilidad, los cambios de carácter, el insomnio, la caída del cabello y otros. Más raramente y durante el tratamiento pueden detectarse datos analíticos de supresión de la médula ósea (leucopenia y plaquetopenia) y problemas neuropsiquiátricos (depresión, irritabilidad). Otros efectos adversos muy poco frecuentes son las alteraciones tiroideas, hipo o hipertiroidismo, lesiones cutáneas como el liquen plano, crisis convulsivas, retinopatía y fibrosis pulmonar¹¹. Los efectos adversos de la ribavirina son el desarrollo de una anemia hemolítica, la genotoxicidad (por lo que se recomienda utilizar medidas contraceptivas tanto en varones como en mujeres), y otros efectos menores, menos frecuentes, como el prurito, el exantema cutáneo y la tos².

PERSPECTIVAS FUTURAS

Interferón pegilado

El interferón pegilado es una nueva molécula que se obtiene mediante la unión fisicoquímica de polietilenglicol (PEG) a una proteína, el interferón alfa recombinante¹²⁻¹⁴. La unión de polietilenglicol a proteínas es un método ya utilizado con otros fármacos, para retrasar su aclaración,

prolongar su actividad y, en consecuencia, mejorar su eficacia. El compuesto resultante es una molécula de mayor tamaño y de vida más prolongada. El tamaño de la molécula es importante, ya que el peso molecular del fármaco condiciona su vida media y su actividad antiviral. A mayor peso molecular, mayor vida media, pero menos actividad antiviral. El peg-interferón es un compuesto muy estable y, tras su administración por vía subcutánea, se produce una liberación rápida de interferón y una lenta liberación, con lo cual sus concentraciones son persistentes y mantenidas durante al menos 140 h; posteriormente, de forma gradual, se va eliminando¹². Esto contrasta con los picos obtenidos con la administración de interferón alfa por vía subcutánea 3 veces por semana, que produce concentraciones elevadas durante las primeras 12 h con un ulterior descenso rápido en las siguientes 12 h. Esta farmacocinética favorable permite la administración de peg-interferón una vez por semana, manteniendo su efecto durante todo este período de tiempo. Además, ofrece las ventajas de una mayor comodidad para el paciente y un mejor cumplimiento del tratamiento¹²⁻¹⁴.

Existen dos tipos de peg-interferón alfa: el peg-interferón alfa 2a y el alfa 2b. Los dos poseen propiedades fisicoquímicas diferentes. El peg-interferón alfa 2b está formado por una molécula lineal de polietilenglicol unida a una molécula de interferón, su configuración es lineal y el peso molecular de 12.000 daltons. Alrededor del 50% de las moléculas de peg están unidas a histidina 34. La vida media de absorción es de 4,6 h, la concentración máxima se alcanza entre 48-72 h y la eliminación es renal siendo la vida media de eliminación es de 40 h¹². El peg-interferón alfa 2a está constituido por una molécula ramificada de polietilenglicol unida mediante enlaces covalentes a la lisina del interferón alfa 2a, siendo el peso molecular medio de 40.000 daltons. La vida media sérica del interferón alfa 2a unido al peg se prolonga en 10 veces¹⁵.

Los estudios clínicos de registro con peg-interferón demuestran que la respuesta virológica obtenida con peg-interferón duplica la observada con los interferones estándar, tanto utilizando interferón alfa 2a como interferón alfa 2b. El peg interferón alfa 2a a dosis de 180 µg/kg por semana proporciona una respuesta sostenida del 39 frente al 19% obtenida con interferón alfa 2a y, de forma similar, 1 µg/kg de peso/semana de peg-interferón alfa 2b durante 48 semanas consigue una respuesta sostenida del 25 frente al 12% del interferón alfa 2b¹⁵⁻¹⁷. La proporción de pacientes que respondieron al peg-interferón alfa 2a fue algo superior; sin embargo, los resultados no son comparables, ya que se trata de 2 estudios distintos, la composición de los pacientes en ambos estudios era diferente, siendo la proporción de pacientes infectados con genotipo 1 superior en el estudio de peg-interferón alfa 2b, las dosis de fármaco tampoco son comparables (más elevadas las de peg-interferón alfa 2a) y los test que midieron la respuesta también eran diferentes¹⁵⁻¹⁷. Sin embargo, a pesar de estos inconvenientes, ambos demuestran la superioridad terapéutica del peg-interferón sobre el interferón estándar. Los efectos adversos del peg-interferón son similares a los del interferón estándar,

a excepción de un mayor número de fenómenos locales en el lugar de la inyección. Las contraindicaciones son, como es lógico, las mismas que con el interferón estándar.

Una de las ventajas del peg-interferón es que consigue un porcentaje más elevado de respuesta sostenida en los pacientes con cirrosis hepática. Las tasas de respuesta sostenida con interferón estándar en los pacientes con cirrosis son de alrededor del 6%, mientras que el peg-interferón incrementa las tasas de respuesta al 29%. Sin embargo, sólo está publicado un estudio con peg-interferón en pacientes con cirrosis hepática¹⁷. Este estudio incluía sólo un 43% de pacientes cirróticos infectados por genotipo 1, el resto estaban infectados por genotipo 2 o 3. En los pacientes con genotipo 1, la tasa de respuesta fue baja, del 10%. La posibilidad de que los pacientes cirróticos presenten respuestas aceptables con peg-interferón y ribavirina, junto con los resultados de distintos estudios, que sugieren que los pacientes tratados con interferón puede disminuir la progresión de la fibrosis hepática, incluso en los pacientes no respondedores, y evitar el desarrollo de hepatocarcinoma están motivando una amplia discusión sobre la posibilidad de tratar a los pacientes con cirrosis hepática de forma prolongada con peg-interferón. Está demostrado y es evidente que los tratamientos con antivirales disminuyen la proporción de pacientes que desarrollan cirrosis hepática² y, en consecuencia, deberían reducir a largo plazo la incidencia de carcinoma hepático¹⁸. Sin embargo, en los pacientes con cirrosis establecida todavía no existen claras evidencias que demuestren el efecto preventivo del tratamiento con interferón. Dos estudios aleatorizados que incluyen un bajo número de pacientes con cirrosis obtienen resultados contradictorios sobre la capacidad del interferón de disminuir la incidencia de hepatocarcinoma^{19,20}. Sin embargo, los recientes resultados del seguimiento a 7-8 años de uno de los estudios anteriores, aleatorizado y prospectivo realizado en Japón y publicado en forma de carta demuestra que un ciclo de 6 meses de interferón en pacientes con cirrosis disminuye las probabilidades de descompensación hepática y de desarrollo de hepatocarcinoma e incrementa la supervivencia²¹. Además, los análisis de cohortes de estudios que comparan pacientes tratados y no tratados sugieren una incidencia inferior de cáncer hepático en los pacientes tratados²². Sin embargo, la interpretación de estos estudios es difícil debido a que los estudios son retrospectivos, los pacientes incluidos son muy heterogéneos, siendo en general los pacientes tratados los que presentan una mejor situación de su enfermedad hepática y los factores concomitantes de progresión de la enfermedad como la edad, el sexo, la ingesta de alcohol y el grado de fibrosis no están aleatorizados ni contemplados en estos trabajos.

En estudios experimentales también se ha evaluado el efecto antiproliferativo del interferón alfa en un panel de tres líneas celulares de hepatocarcinoma y, por primera vez, se ha demostrado un importante y transitorio retraso en el ciclo de progresión celular, en la fase S y se han identificado como moléculas diana del ciclo celular regu-

lador diversas ciclinas dependientes de las cinasas²³. En un futuro, todos estos hallazgos motivarán que se evalúe más intensamente el papel del interferón en la prevención del hepatocarcinoma.

Interferón pegilado y ribavirina

El siguiente paso, como era lógico, ha sido combinar el interferón pegilado con la ribavirina. En la actualidad se disponen de los resultados preliminares de un estudio multicéntrico que evalúa 2 pautas distintas de peg-interferón alfa 2b y ribavirina y compara los resultados con el tratamiento combinado utilizando interferón estándar²⁴. Las 2 pautas evaluadas son 1,5 µg/kg de peg-interferón a la semana durante 4 semanas seguido de 0,5 µg/kg semanales durante 48 semanas asociado durante todo el tiempo con 1-1,2 g/ribavirina diarios o una dosis fija de 1,5 µg/kg semana de peg-interferón y 800 mg de ribavirina diarios durante 48 semanas. El estudio incluye más de 1.500 pacientes con hepatitis C crónica y demuestra que la respuesta sostenida al tratamiento estándar es del 47%, a 0,5 µg/kg/día de peg-interferón y ribavirina del 47% y a 1,5 µg/kg de peg-interferón y ribavirina del 54%. Así pues, la dosis de 1,5 µg/kg de peso y semana de peg-interferón es la más eficaz. En los pacientes infectados por el genotipo 1, la respuesta al peg-interferón (1,5 µg/kg/semana) y ribavirina es del 42%, frente al 33% del tratamiento estándar, y en los pacientes con genotipo 2 y 3, el peg-interferón consigue una respuesta del 82% y el estándar del 79%. Dado que la dosis de 1,5 µg/kg/semana de peg-interferón se asoció a una dosis más baja de ribavirina, se realizó un análisis posterior de los resultados ajustando la dosis de ribavirina por el peso del enfermo y se observó que los pacientes que habían recibido una dosis de ribavirina superior a 10,6 mg/kg de peso y día consiguieron incrementar la tasa de respuesta sostenida hasta el 61% y los pacientes con genotipo 1 hasta el 40%. Asimismo, el cumplimiento del tratamiento, ya que los resultados anteriores están analizados por intención de tratar, se acompañó de un incremento en la respuesta sostenida que llega a ser del 54% en los pacientes con infección por genotipo 1 y alta carga viral.

Por tanto, el futuro inmediato con el tratamiento combinado de peg-interferón y ribavirina es prometedor, ya que en menos de una década se ha incrementado la respuesta sostenida en los peores enfermos desde el 16% con la monoterapia con interferón durante un año hasta el 54% con los nuevos tratamientos, por lo que en estos momentos cada vez resulta más atractivo tratar a los pacientes con hepatitis C crónica.

Tratamientos de inducción

Existen evidencias que la administración de dosis más elevadas de interferón inducen un aclaración más rápida y pronunciada del ARN-VHC²⁵⁻³⁰. Se ha demostrado que el interferón actúa en una fase inicial de forma dependiente

de la dosis. Las dosis de interferón superiores de 10 o 5 millones de unidades consiguen a las 24 h un descenso más rápido y pronunciado del ARN-VHC²⁵. Puesto que la disminución rápida de la viremia se asocia con una tasa de respuesta mantenida más elevada, parecía razonable estudiar si el tratamiento con interferón administrado a dosis más altas y frecuentes, lo que se ha denominado «pauta de inducción», podría resultar más eficaz³⁰. Hasta el momento ningún estudio ha objetivado que la monoterapia con interferón en pauta de inducción sea más ventajosa. No obstante, se están realizando distintos estudios en los que se pretende evaluar la eficacia y seguridad del tratamiento de inducción con interferón y ribavirina, especialmente en pacientes con genotipo 1 y comparado con el tratamiento estándar. Los resultados preliminares sugieren que existe un incremento en la respuesta virológica al final del tratamiento; sin embargo, la respuesta virológica sostenida no parece que se modifique de forma sustancial.

Recientemente, utilizando un modelo matemático se ha estimado que la dosis y duración necesaria de la terapia diaria con interferón alfa y ribavirina para conseguir incrementar el porcentaje de pacientes que negativizan el ARN-VHC a las 12 semanas del tratamiento debería ser de 5 a 10 millones de unidades diarias durante un período superior a 4 semanas, entre 5 y 7 semanas dependiendo de la dosis de interferón alfa utilizado³¹. Desde el punto de vista virológico, la mayoría de los pacientes que alcanzan una respuesta mantenida negativizan el ARN precozmente, durante las 12 primeras semanas del tratamiento, y consiguen una reducción superior a 3 logs en los valores de ARN durante las primeras 4 semanas, siendo ambos factores predictivos de respuesta sostenida²⁷⁻³⁰. Sin embargo, todavía es prematuro hacer recomendaciones basadas en los valores de ARN del VHC. Los valores de viremia en los pacientes no tratados son fluctuantes y las técnicas de laboratorio dedicadas a la evaluación de la carga viral tienen límites de detección diferentes y no están estandarizadas, lo que no permite comparar los resultados y hacer recomendaciones para la práctica clínica, pero es evidente que para los pacientes resistentes al tratamiento, la dosis de interferón y la frecuencia de su administración influyen en la eliminación temprana del ARN del VHC.

PACIENTES CON RECIDIVA TRAS MONOTERAPIA CON INTERFERÓN

En los pacientes con recidiva después de la terapia con interferón, el tratamiento combinado ofrece unos resultados excelentes. El tratamiento combinado durante 6 meses en los pacientes con respuesta transitoria proporciona una respuesta sostenida del 50% y su prolongación hasta un año incrementa la respuesta hasta del 72%^{32,33}. Así pues, de forma similar que en los pacientes «naïves», los pacientes con recidiva infectados por genotipo 2 y 3 deberían ser tratados durante 6 meses y los pacientes con genotipo 1 durante un año. La recidiva posterior al tratamiento combinado durante 48 semanas es infrecuente, por lo que existen pocos pacientes que recidiven tras el tratamiento combinado^{32,33}.

PACIENTES NO RESPONDEDORES AL INTERFERÓN

Los pacientes que tras un tratamiento con interferón no han presentado una respuesta bioquímica y/o virológica se consideran no respondedores. El grupo de pacientes no respondedores es muy numeroso y heterogéneo, y no se pueden equiparar los no respondedores virológicos con los no respondedores bioquímicos, ni tampoco los no respondedores al interferón con los no respondedores al tratamiento combinado^{2,3}. Los pacientes no respondedores virológicos al interferón, en general no responden al tratamiento combinado, mientras que entre los no respondedores bioquímicos existen algunos respondedores virológicos que posteriormente recaen, y estos pacientes pueden beneficiarse del tratamiento combinado^{35,36}. Además, algunos de estos pacientes no respondedores al interferón o al tratamiento combinado durante 6 meses, sobre todo si son de genotipo 1, pueden beneficiarse del tratamiento combinado durante 12 meses. Se ha ensayado el retratamiento con interferón y ribavirina consiguiéndose una respuesta virológica entre el 15 y el 20% de los pacientes tratados durante un año³⁷⁻³⁹. Otras asociaciones, como interferón y amantadina o tratamiento triple con interferón, ribavirina y amantadina no parecen ofrecer resultados superiores⁴⁰. El tratamiento de los pacientes no respondedores no está todavía resuelto y probablemente el interferón pegilado tampoco solucione este problema, por lo que se necesitan nuevos fármacos para estos pacientes.

NUEVAS TERAPIAS

La ausencia de un cultivo celular para el VHC ha dificultado enormemente el desarrollo de nuevos fármacos antivirales. De manera reciente se ha podido construir, mediante técnicas de biología molecular, un replicón del VHC⁴¹. Un replicón es la mínima estructura genética del virus capaz de replicarse por sí misma en las células del huésped. El replicón del VHC construido abarca las regiones 5' y 3', distintas regiones que codifican proteínas no estructurales, como la proteasa helicasa y la ARN polimerasa, y una secuencia nucleotídica que codifica una proteína marcadora, que se utiliza como indicador de replicación viral. Este replicón permitirá ensayar distintos fármacos, como los inhibidores de las proteasas y helicasas, inhibidores de la ARN polimerasa y ribonucleasas.

El conocimiento de la estructura de NS3 de la helicasa, enzima que se encarga de la separación de los dímeros del ARN durante la replicación viral, ha permitido diseñar inhibidores de la helicasa que bloquean el proceso de la replicación. También se ha identificado la estructura tridimensional de la proteasa NS3, que será de gran utilidad para el diseño de inhibidores de la proteasa. Por último, los ribozimas y la utilización de sondas complementarias de los oligonucleótidos de regiones con escasa variabilidad genética, como las regiones 5' y 3', podrían ser de gran utilidad para el desarrollo de nuevos fármacos. Los nuevos fármacos para la hepatitis C deberían ser de fácil y cómoda administración, preferiblemente por vía oral y sin efectos adversos. Por tanto, la monitorización

del tratamiento debería poder ser realizada por cualquier médico y el coste razonable, por lo que queda todavía un largo camino hasta conseguir estos objetivos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Anonymous. Global surveillance and control of hepatitis C. Report of a WHO Consultation. *Viral Hepatitis* 1999; 6: 35-47.
2. Anonymous. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. *Hepatology* 1999; 30: 956-961.
3. Anonymous. National institutes of health consensus development conference panel statement. Management of hepatitis C. *Hepatology* 1997; 26 (Supl 1): 28-108.
4. 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. *N Engl J Med* 1998; 339: 1485-1492.
5. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, Niederau C, Minuk GS, Ideo G et al. Randomised trial of interferon α 2b plus ribavirin for 48 weeks or 24 weeks versus interferon α 2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *Lancet* 1998; 352: 1426-1432.
6. 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; 351: 1660-1664.
7. Poynard T, McHutchison J, Goodman Z, Ling M-H, Albrecht J. Is an «à la carte» combination interferon alfa-2b plus ribavirin regimen possible for the first line treatment in patients with chronic hepatitis C? *Hepatology* 2000; 31: 211-218.
8. Lau DTY, Kleiner DE, Ghany MG, Park Y, Scmid P, Hoofnagle JH. 10-year follow-up after interferon- α therapy for chronic hepatitis C. *Hepatology* 1998; 28: 1121-1127.
9. 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; 127: 875-881.
10. Reichard O, Glaumann H, Frydén A, Norkrans G, Wejstål R, Weiland O. Long-term follow-up of chronic hepatitis C patients with sustained virological response to alpha-interferon. *J Hepatol* 1999; 30: 783-787.
11. Renault PF, Hoofnagle JH. Side effects of alpha interferon. *Semin liver Dis* 1989; 9: 273-277.
12. Glue P, Rouzier-Panis R, Raffanel C, Sabo R, Gupta SK, Salfi M et al. A dose-ranging study of pegylated interferon alfa-2b and ribavirin in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2000; 32: 647-653.
13. Taplaz, M, Cortes J, O'Brien S, Keating M, Files F, Rose E et al. Phase I study of polyethylene glycol (PEG) interferon alpha-2b (Introm A) in CML [resumen]. *Blood*; 92 (Supl): 251.
14. Glue P, Fang JWS, Sabo R, Rouzier-Panis R, Raffanel C, Sabo R et al. PEG-Interferon alfa-2b: pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety and preliminary efficacy data. *Hepatology* 1999; 30 (Supl): 189.
15. Zeuzem S, Feinman V, Rasenck J, Heatchote J, Lai M-YL, Gane E et al. Peginterferon alfa-2a in patients chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 2000; 343: 1666-1672.
16. Trepo C, Lindsay K, Niederau C, Schiffman M, Gordon S, Hoefs J et al. Pegylated interferon alfa-2b (PEG-INTRON) monotherapy is superior to interferon alfa-2b (INTRON A) for the treatment of chronic hepatitis C [resumen]. *J Hepatol* 2000; 32 (Supl 2): 29.
17. Heatchote EJ, Shiffman ML, Graham W, Cooksley E, Dusheiko G, Lee SS et al. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C and cirrhosis. *N Engl J Med* 2000; 343: 1673-1680.
18. Imai Y, Kawata S, Tamura S, Yabuuchi I, Noda S, Inada M et al. Relation of interferon therapy and hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. *Ann Intern Med* 1998; 129: 94-99.
19. Nishiguchi S, Kuroki T, Nakatani S, Morimoto H, Takeda T, Nakajima S et al. Randomised trial of effects of interferon-alpha on incidence of hepatocellular carcinoma in chronic active hepatitis C with cirrhosis. *Lancet* 1995; 346: 1051-1055.
20. Valla DC, Chevallier M, Marcellin P, Payen JL, Trepo C, Fonck M et al. Treatment of hepatitis C virus-related cirrhosis: a randomized, controlled trial of interferon alfa-2b versus no treatment. *Hepatology* 1999; 29: 1870-1875.
21. Nishiguchi S, Shiomi S, Nakatani S, Takeda T, Fukuda K, Tamori A et al. Prevention of hepatocellular carcinoma in patients with chronic active hepatitis C and cirrhosis. *Lancet* 2001; 357: 196-197.
22. Baffis V, Shrier I, Sherker AH, Szilagyi A. Use of interferon for prevention of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients with hepatitis B or hepatitis C virus infection. *Ann Intern Med* 1999; 131: 696-701.
23. Murphy D, Detjen KM, Welzel M, Wiedenmann B, Rosewick S. Interferon alfa delays S-phase progression in human hepatocellular carcinoma cells via inhibition of specific cyclin-dependent kinases. *Hepatology* 2001; 33: 346-356.
24. Manns M, McHutchison JC, Gorgon S, Rustgi VK, Shiffman M, Reindollar R et al. Peginterferon alfa 2b plus ribavirin compared to interferon alfa2b plus ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C: results of randomised trial. *The Lancet* 2001. En prensa.
25. Lam NP, Neumann AU, Gretch DR, Wiley TE, Perelson AS, Layden TJ. Dose-dependent acute clearance of hepatitis C genotype 1 virus with interferon alfa. *Hepatology* 1997; 26: 226-231.
26. Zeuzem S, Lee JH, Franke A, Ruster B, Prümmer O et al. Quantification of the initial decline of serum hepatitis C virus RNA and response to interferon alfa. *Hepatology* 1998; 27: 1149-1156.
27. Bekkering FC, Brouwer JT, Leroux-Roels G, Van Vlierberghe H, Elewaut A, Schalm SW. Ultrarapid hepatitis C virus clearance by daily high-dose interferon in non-responders to standard therapy. *J Hepatol* 1998; 28: 960-964.
28. Zeuzem S, Schmidt JM, Lee JH, Von Wagner M, Teuber G, Roth WK. Hepatitis C dynamics in vivo: effect of ribavirin and interferon alfa on viral turnover. *Hepatology* 1998; 28: 245-252.
29. Zeuzem S. Clinical implications of hepatitis C viral kinetics. *J Hepatol* 1999; 31 (Supl 1): 61-64.
30. Layden TJ. Principles of interferon induction therapy. *Am J Med* 1999; 27: S712-S773.
31. Bekkering FC, Stalgis C, McHutchison JG, Brouwer JT, Perelson AS. Estimation of early hepatitis C viral clearance in patients receiving daily interferon and ribavirin therapy using a mathematical model. *Hepatology* 2001; 33: 419-423.
32. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, Hoefs J, Gordon SC, Trepo C et al. Interferon alfa2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998; 339: 1493-1499. Of chronic infection with hepatitis C virus. *Lancet* 1998; 352: 1426-1432.
33. Di Marco V, Almasio P, Vaccaro A, Ferraro D, Parisi P, Cataldo MG et al. Combined treatment of relapse of chronic hepatitis C with high-dose α 2b interferon plus ribavirin for 6 or 12 months. *J Hepatol* 2000; 33: 456-462.
34. Brillanti S, Garson J, Folli M, Whitby K, Deaville R, Masci C et al. A pilot study of combination therapy with ribavirin plus interferon for interferon-resistant chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 1994; 107: 812-817.
35. Schvarcz R, Yun ZB, Sonnerborg A, Weiland O. Combination treatment with interferon -2b and ribavirin for chronic hepatitis C in patients with a previous non-response or non-sustained response to interferon alone. *J Med Virol* 1995; 46: 43-47.
36. Brouwer J, Nevens F, Michielsens P. What options are left when hepatitis C does not respond to interferon? Placebo-controlled Benelux multicentre retreatment trial on ribavirin monotherapy versus combination with interferon. *J Hepatol* 1994; 21: 17A.
37. Pol S. Ribavirin-interferon vs. Interferon (alfa 2b-IFN) alone in non-responders to -2b IFN in chronic hepatitis C. *Hepatology* 1996; 24: A356.
38. Buti M, Olive G, Stalgis C, Esteban R, Guardia J. Quantification of serum hepatitis C virus RNA with daily or standard interferon doses plus ribavirin in nonresponder patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci* 2000; 45: 1-5.
39. Bellobuono A, Mondazzi L, Tempini S, Chiodo F, Magliano E, Furiano L et al. Early addition of ribavirin to interferon in chronic hepatitis C not responsive to interferon monotherapy. *J Hepatol* 2000; 33: 463-468.
40. Younossi ZM, Mullen KD, Zakko W, Hodnick S, Brand E, Barnes DS et al. A randomized, double-blind controlled trial of interferon alpha-2b and ribavirin vs. interferon alpha-2b and amantadine for treatment of chronic hepatitis C non-responder to interferon monotherapy. *J Hepatol* 2001; 34: 128-133.
41. Lohmann V, Corner F, Koch J, Herian U, Theilmann L, Bartenschlager R. Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. *Science* 1999; 285: 110-113.