



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

TESIS DOCTORAL:
EVOLUCIÓN A LARGO PLAZO DE PACIENTES CON
HEPATITIS C Y FIBROSIS LEVE-MODERADA (F0-2)
DESPUÉS DEL TRATAMIENTO ANTIVÍRICO.
IMPORTANCIA DE SU EVALUACIÓN MEDIANTE
BIOPSIA HEPÁTICA O ELASTOGRAFÍA.



Universitat Autònoma de Barcelona

NURIA CAÑETE HIDALGO

BARCELONA, 2017

Universitat Autònoma de Barcelona
Facultat de Medicina
Departament de Medicina



Universitat Autònoma de Barcelona

**"EVOLUCIÓN A LARGO PLAZO DE PACIENTES CON HEPATITIS C Y FIBROSIS
LEVE-MODERADA (F0-2) DESPUÉS DEL TRATAMIENTO ANTIVÍRICO.
IMPORTANCIA DE SU EVALUACIÓN MEDIANTE
BIOPSIA HEPÁTICA O ELASTOGRAFÍA"**

Tesis presentada por

NURIA CAÑETE HIDALGO

parar optar al grado de Doctor de la Universitat Autònoma de Barcelona

Esta tesis se ha realizado bajo la dirección del Dr. Ricard Solà Lamoglia y la Dra.
Isabel Cirera del Servei de Digestiu de l'Hospital del Mar

Tesis adscrita al Programa de Doctorado en Medicina de la Facultat de Medicina de la
Universitat Autònoma de Barcelona

Nuria Cañete Hidalgo
Doctoranda

Dr. Ricard Solà Lamoglia
Director de la tesis

Dra. Isabel Cirera Lorenzo
Directora de la tesis

Barcelona, junio de 2017



Universitat Autònoma de Barcelona

El Dr. RICARD SOLÀ LAMOGLIA, Profesor Titular de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona, Jefe de Sección del Servicio de Digestivo del Hospital del Mar de Barcelona, y la Dra. ISABEL CIRERA LORENZO, Profesora Asociada de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona, Jefa del Servicio de Urgencias,

CERTIFICAN:

Que la Tesis Doctoral titulada “EVOLUCIÓN A LARGO PLAZO DE PACIENTES CON HEPATITIS C Y FIBROSIS LEVE-MODERADA (F0-2) DESPUÉS DEL TRATAMIENTO ANTIVÍRICO. IMPORTANCIA DE SU EVALUACIÓN MEDIANTE BIOPSIA HEPÁTICA O ELASTOGRAFÍA”, presentada por NURIA CAÑETE HIDALGO, para acceder al título de Doctor en Medicina, se ha realizado bajo su dirección, considerando que reúne los requisitos formales y científicos adecuados para su preceptiva lectura y defensa públicas.

Y para que conste, a los efectos oportunos, firman la presente certificación en Barcelona, el día 15 de Junio de 2017

Dr. Ricard Solà Lamoglia

Dra. Isabel Cirera Lorenzo

Para aprender hay que equivocarse

A mi madre por la vida

A Sergi por mi vida

A Nicolás y Sofía por ser vida

Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer a Isabel Cirera la pasión que me contagió por la Hepatología, no podré olvidar tanto compartido y aunque tu marcha me nubló el camino, al final siempre hay luz y la hemos encontrado.

A Ricard Solà por confiar en mí, ser humano, por tu tiempo y entrega en ayudarme en esta aventura, sin tí nada hubiera sido posible.

A Montse y Lucía por la amistad, la ayuda, la comprensión y la lealtad, gracias por tantos momentos juntas, sois parte fundamental en mi historia.

A Belén y Lucas por compartir y disfrutar los mejores años de mi vida, la residencia.

A Felipe Bory por ser el culpable de mi amor a este servicio y a este hospital, siempre estarás presente.

A Dolors por el ejemplo de trabajo bien hecho y de actitud, a Rosa por la constancia y a Diego por la ayuda.

A la Sección de Hepatología, José, Susanna, Marc y Tere, por el apoyo, y a todo mi Servicio, equipo médico, enfermería y administrativos por las ganas, la responsabilidad y el trabajo bien hecho, y en especial a Xavi Bessa, mi primer tutor y ahora guía en este nuevo viaje lleno de ilusiones y esperanzas.

No puedo dejar de dar las gracias al Servicio de Digestivo de Mútua de Terrassa, a todos y cada uno, en especial a Maria, Montse y Yamile. Muchas gracias por el apoyo, las ganas y la comprensión, esto también es vuestro.

Muchas gracias a todas y cada una de las personas que han pasado por mi vida, todas de una u otra forma han contribuido a mi crecimiento personal y profesional.

A mi madre por tu lucha diaria, tu ejemplo de vida y de amor a los demás. A mi hermano por ser mi primer compañero en este viaje de la vida, te esperé siempre. A mis tías y mi abuela, sin vosotras nada sería lo mismo.

A mi compañero de vida, Sergi, doy gracias por nuestro cruce de caminos, gracias por ser como eres, la comprensión, el apoyo, el aguante y dejar de ser un poco tú para ser los dos.

Gracias a mi mayor logro de vida, Nicolás y Sofía, dos estrellas en los días oscuros y dos soles en la mayoría, ésto también es vuestro, ahora entiendo aquello de lo que no haces por tí, lo haces por tus hijos.

Gracias también a Mireya y Josep por vuestro apoyo y ayuda.

Y en definitiva,

“ Son muchas las manos y los corazones

que contribuyen al éxito de una persona”

Walt Disney

Lista de abreviaturas	17
INTRODUCCIÓN	19
1. EPIDEMIOLOGÍA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C	21
1.1. Prevalencia del VHC	21
1.2. Incidencia del VHC	23
1.3. Genotipos del VHC	25
2. HISTORIA NATURAL DE LA INFECCIÓN POR VHC	30
2.1. Historia natural de la infección aguda por VHC	30
2.2. Historia natural de la infección crónica por VHC	30
3. FIBROSIS HEPÁTICA	36
3.1. Mecanismos patogénicos de la fibrosis hepática	36
3.2. Factores de progresión de la fibrosis hepática	38
3.2.1. Factores del huésped	38
3.2.2. Factores ambientales	41
3.2.3. Factores virales	42
4. MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA	43
4.1. Biopsia hepática	43
4.2. Métodos no invasivos de la evaluación de la fibrosis	46
4.2.1. Índices serológicos de fibrosis hepática	46
4.2.1.1. Fiabilidad	48
4.2.1.2. Rendimiento	48
4.2.2. Elastografía de transición	49
4.2.2.1. Fiabilidad	50
4.2.2.2. Rendimiento	52

5. TRATAMIENTO ANTIVIRAL Y VHC	53
5.1. Perspectiva histórica del tratamiento antiviral	53
5.2. Impacto del tratamiento antiviral en evolución de la hepatitis C	54
ESTUDIO: Evolución a largo plazo de pacientes con hepatitis C y fibrosis leve-moderada (F0-2) después del tratamiento antivírico. Importancia de su evaluación mediante biopsia hepática o elastografía	57
1. HIPÓTESIS	59
2. OBJETIVOS	63
3. MATERIAL Y MÉTODOS	67
3.1. Pacientes	69
3.2. Biopsia hepática	70
3.3. Elastografía hepática	71
3.4. Definiciones y variables analizadas	71
3.5. Análisis estadístico	72
4. RESULTADOS	73
4.1. Respuesta al tratamiento	81
4.2. Progresión de la fibrosis	83
4.3. Evolución de la enfermedad a muy largo plazo en pacientes con fibrosis leve-moderada no respondedores al tratamiento con interferón. Influencia del re-tratamiento	93
DISCUSIÓN	99
CONCLUSIONES	107
BIBLIOGRAFÍA	111

LISTA DE ABREVIATURAS

VHC: virus de la hepatitis C

AAD: antivirales de acción directa

AEEH: Asociación Española para el Estudio del Hígado

ARN: ácido ribonucleico

RVS: respuesta viral sostenida

ALT: alanina aminotransferasa

AST: aspartato aminotransferasa

MEC: matriz extracelular

TNF: factor de necrosis tumoral

IL: interleuquina

CCL: ligando de quimiocina

TGF: factor de crecimiento transformante

SNP: polimorfismo de nucleótido simple

IFN: interferón

VHB: virus de la hepatitis B

VIH: virus de la inmunodeficiencia humana

GGT: gammaglutamil transpeptidasa

kPa: kilopascales

VPN: valor predictivo negativo

MMP: metaloproteasas de la matriz

TIMP: inhibidor tisular de la metaloproteinasa

M: mediana

IQR: intercuartil

ET: elastografía de transición

EH: elasticidad hepática

RH: rigidez hepática

ABC: área bajo la curva

CHC: carcinoma hepatocelular

OR: odds ratio

ES: error estándar

RLL: análisis multivariado

HCC: hepatitis crónica C

1. EPIDEMIOLOGÍA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C

1.1. Prevalencia del VHC

La infección crónica por virus C afecta entre 130-150 millones de personas y provoca el fallecimiento anual de 700000 pacientes en el mundo, siendo una de las infecciones víricas más prevalentes y la principal causa de enfermedad hepática en los países desarrollados ¹. En recientes estudios epidemiológicos llevados a cabo tras la disposición de los nuevos antivirales de acción directa (AAD), se ha podido observar que tal vez estas cifras podrían estar sobrestimadas y que la prevalencia global de anticuerpos frente al VHC podría ser alrededor del 1,6%, correspondiendo a un total de 115 millones de personas. En referencia a la población virémica, es decir aquella con ARN detectable, estaría alrededor del 1,1% lo que correspondería a un total de 80 millones de personas ² (Figura 1).

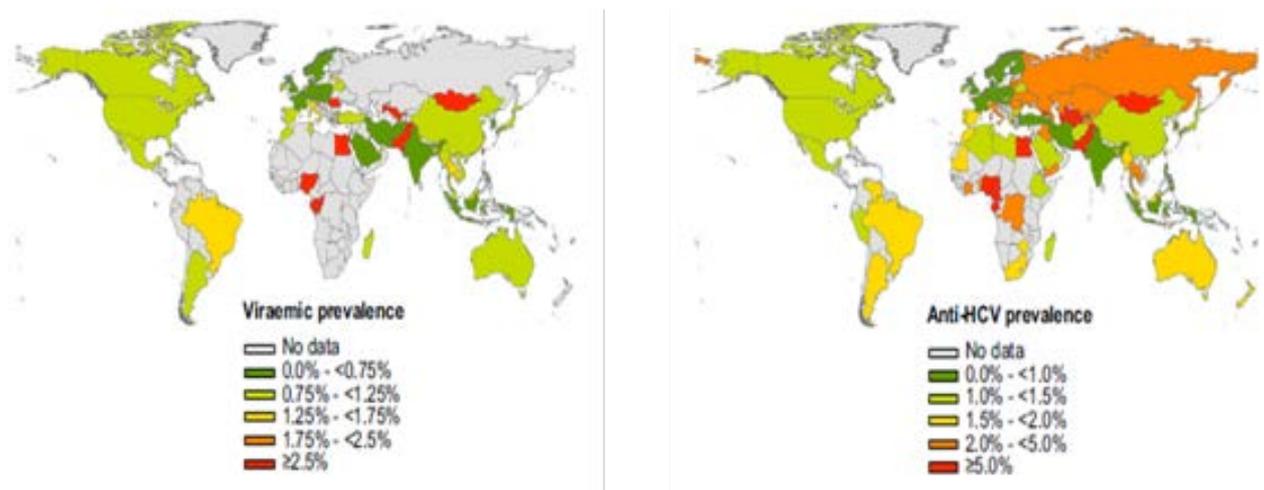


Figura 1. Prevalencia serológica y virémica de la hepatitis C de los países que disponen de estudios. Adaptado de Gower E et al. Journal of Hepatology 2014, vol.61 S45-S57.

La hepatitis C es una infección prevalente en todo el mundo, siendo Asia Central y Oriental y África las regiones más afectadas. En Europa, se estima que entre 7,3-8,8 millones de individuos están infectados de forma crónica (Tabla 1).

Tabla 1. Prevalencia regional y estimación de población infectada. Adaptado de Gower E et al. Journal of Hepatology 2014, vol.61 S45-S57.

REGIÓN	PREVALENCIA ANTI-VHC	Nº ESTIMADO DE PERSONAS INFECTADAS (millones)
Asia Pacífico	1,1%	1,5
Asia Central	5,4%	1,9
Este de Asia	1,2%	10,0
Sur de Asia	1,1%	15,2
Sudeste Asiático	1,0%	4,2
Australasia	1,4%	0,3
Caribe	0,8%	0,2
Europa Central	1,3%	1,2
Europa del Este	3,3%	4,7
Europa del Oeste	0,9%	2,6
América Andina	0,9%	0,4
América Central	1,0%	1,9
Sudamérica	1,2%	0,6
Latinoamérica Tropical	1,2%	2,0
Norte de África/Oriente Medio	3,1%	9,7
América del Norte	1,0%	2,8
Oceanía	0,1%	0
África subsahariana central	4,2%	2,6
África subsahariana del este	1,0%	2,4
África subsahariana del sur	1,3%	0,7
África subsahariana del oeste	5,3%	14,9

En España no disponemos de datos recientes de la prevalencia por VHC, pero se estima que es del 1,15%³⁻⁹, siendo más baja en la población menor de 20 años y va aumentando con la edad, lo que indica un efecto de cohorte^{3,5,9}. La incidencia de la infección ha disminuido en los países desarrollados al 1 por 100.000 habitantes¹⁰⁻¹², y en España ha disminuido del 6 al 2,3 por 100.000 habitantes en el período 1997-2003¹³. En nuestro país la infección es más prevalente en las zonas industrializadas como Madrid y Cataluña (el 2,5% y el 2,6%)^{3,6,7}. La prevalencia de anticuerpos frente al VHC aumenta con la edad, observándose 2 picos: uno en el grupo de mediana edad infectados por el uso de drogas por vía parenteral en la juventud, y otro en el grupo de mayores de 65 años, infectados probablemente por vía transfusional antes de 1990 o por el uso de jeringuillas no estériles para la administración de medicamentos antes de 1975⁹. Además, las corrientes migratorias de las últimas décadas también podrían haber impactado sobre la prevalencia en nuestro medio. En un estudio realizado en pacientes de origen paquistaní en Barcelona mostró una prevalencia de anticuerpos frente al VHC del 11,3% (IC 95%, 8,7-13,9)¹⁴.

Ante la introducción de los tratamientos antivirales directos se están realizando diversos estudios epidemiológicos en distintas zonas de nuestro país para conocer la prevalencia en el momento actual de la infección. En Cataluña se ha iniciado la estimación de la prevalencia de anticuerpos a través del uso de tests serológicos de diagnóstico rápido impulsado por la Societat Catalana de Digestologia. También está en curso el estudio ETHON que se realiza en Madrid, Cantabria y Valencia. De ambos estudios se han presentado datos preliminares en el Congreso Anual de la AEEH, y ambos estudios coinciden con una prevalencia global de antiVHC del 1,1%^{15,16}.

1.2. Incidencia del VHC

Existen varias dificultades para valorar la historia natural de la infección así como de estimar su incidencia real. Una limitación importante es que la fase aguda de la infección suele ser asintomática o paucisintomática en el 85% de los casos lo que impide que sean diagnosticados¹⁷. Además, no se puede distinguir entre infección

aguda y crónica cuando diagnosticamos a un paciente con transaminasas elevadas y anticuerpos positivos frente al VHC dado que no disponemos de ningún marcador de infección reciente por este virus. Por otro lado, se ha confirmado que se comunican pocos casos de hepatitis a los servicios de vigilancia epidemiológica de las diferentes comunidades autónomas ¹³, tal y como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Número de casos de hepatitis C en España en 2014. Adaptado del Plan Estratégico para el Abordaje de la Hepatitis C en el Sistema Nacional de Salud 2015.

Comunidad Autónoma	Año 2014	
	Nº casos	Tasa*
Andalucía	314	3,74
Aragón	50	3,77
Cantabria	18	3,06
Castilla-León	101	4,05
Castilla la Mancha	17	0,82
Cataluña	45	--
Extremadura	6	--
Madrid	68	1,05
Melilla	7	8,28
Murcia	0	0,00
Navarra	0	
La Rioja	6	1,88
País Vasco	4	0,18
Valencia	154	3,00
Total	677	

Fuente: casos declarados por las CCAA * Tasa: por 100.000 habitantes

Por otra parte, los diferentes estudios realizados en la década de los noventa, que analizaron los mecanismos de transmisión de la infección coincidieron en señalar que ello solo era posible en aproximadamente el 50% de los casos, preferentemente en los infectados por drogadicción por vía parenteral y transfusiones ^{4,5,9}. Otros factores, que se han identificado en estudios posteriores han sido las relaciones sexuales de riesgo, los tatuajes, la cirugía o los ingresos recientes en centros hospitalarios. Sin embargo, es posible que el mecanismo de transmisión haya variado con el tiempo, ya que hace más de 25 años que se ha eliminado la vía transfusional y se ha reducido la transmisión por drogas de uso intravenoso por la disminución del consumo y por la utilización de jeringuillas desechables.

1.3. Genotipos del virus de la hepatitis C

El virus de la hepatitis C es uno de los virus con un mayor grado de diversidad genética, consecuencia de su elevada cinética de replicación viral y de la baja fidelidad de la RNA polimerasa dependiente de ARN, enzima responsable de la replicación, con una tasa de error aproximada de 10^{-4} ¹⁸. Esta variabilidad intergenoma da lugar a que existan diferentes genotipos y subtipos. Hasta el momento se han descrito 6 genotipos mayores y hasta 11 genotipos distintos, y con múltiples subtipos. Aunque los genotipos 1, 2 y 3 están distribuidos por todo el mundo, su prevalencia es heterogénea en los diferentes países (Figura 2).

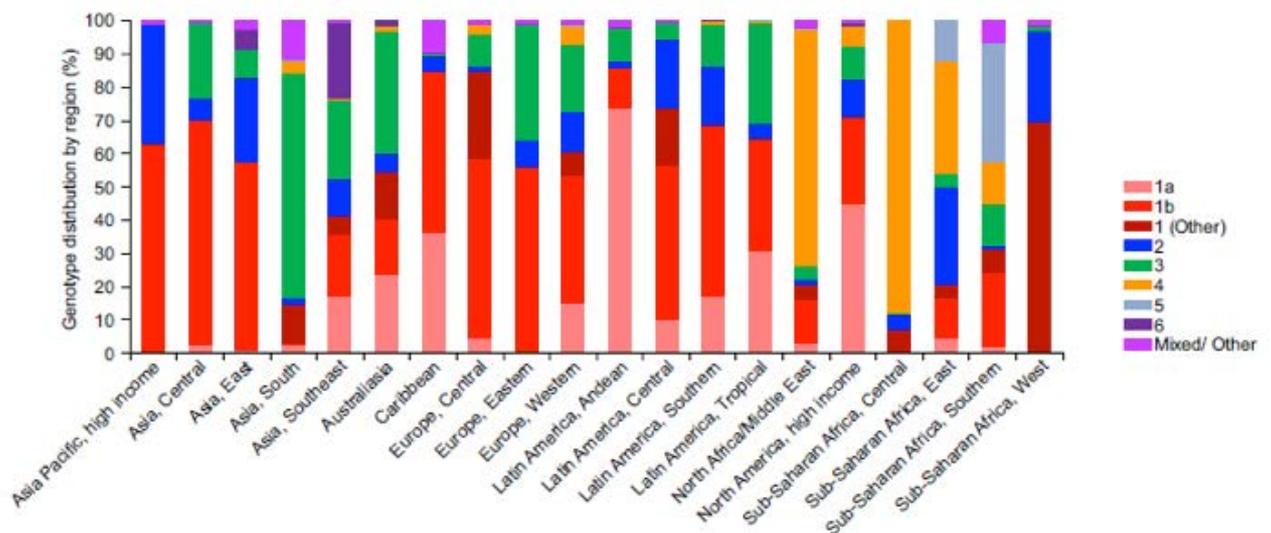


Figura 2. Distribución regional del genotipo. Gower E et al. Journal of Hepatology 2014, vol.61 S45-S57.

En general, el genotipo 1 es el más común siendo el responsable del 46% del total de infecciones, seguido por los genotipos 3 (22%), 2 y 4 (13% en cada caso). Respecto al subtipo del genotipo 1, el genotipo 1b es el más frecuente con un total del 22% de todas las infecciones a nivel mundial ².

Los subtipos 1a y 1b del VHC son los genotipos más comunes en EEUU y Europa, respectivamente. En Japón, el subtipo 1b es el responsable de más del 73% de las infecciones crónicas por VHC. Los subtipos 2a y 2b también son comunes en EEUU, Europa y Japón. El genotipo 3a en los países occidentales es particularmente prevalente entre los adictos a drogas por vía parenteral y es prevalente en los países del Sur de Asia. El genotipo 4 es más prevalente en las poblaciones del Norte de África y Oriente Medio. En cambio, los genotipos 5 y 6 están confinados en África del Sur y Hong Kong, respectivamente.

La distribución geográfica y la diversidad de los genotipos del VHC son claves para conocer el origen de este virus ¹⁹. La presencia de numerosos subtipos en algunas regiones del mundo, como el Sudeste Asiático y África, sugieren la presencia de una infección endémica de larga evolución. En cambio, la falta de diversidad de subtipos de los países de Occidente podría estar relacionada con una introducción reciente de estos virus desde zonas de infección endémicas, tal como se muestra en la Figura 3 ²⁰.

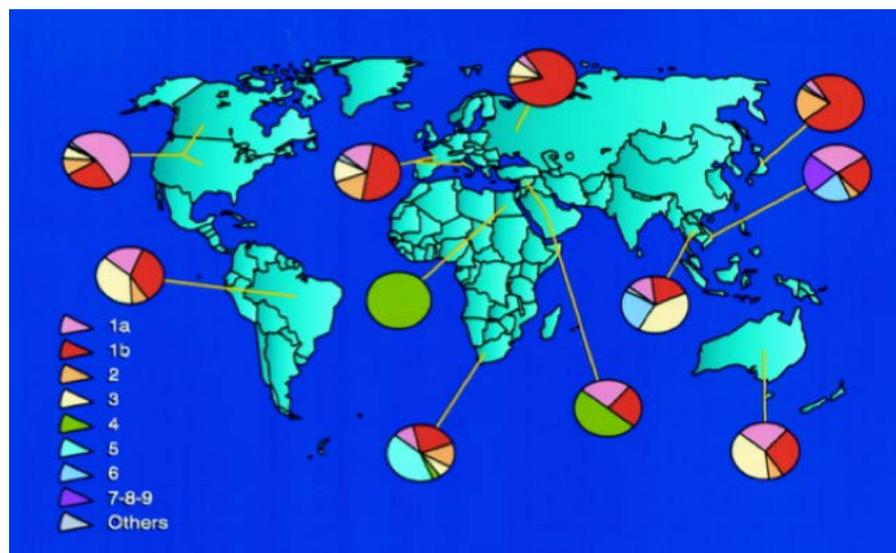


Figura 3. Distribución mundial de genotipos y subtipos del VHC. Nizar N.Zein Clin Microbiol Rev 2000;13;223-235.

La distribución de genotipos del VHC en la población española muestra un predominio claro del genotipo 1, en especial del 1b, en más del 70% de casos ¹⁹⁻²³. El segundo en frecuencia sería el genotipo 3, siendo entre el 12 y el 17% de los casos. Los genotipos 2 y 4, se presentan en menor frecuencia, entre el 1 y el 3%, y entre el 2 y el 7%, respectivamente.

La variabilidad del genotipo también es importante en la evolución de la infección y el desarrollo de la enfermedad hepática. Así pues, aquellos pacientes infectados por genotipo 1b evolucionan en mayor proporción (92%) a la cronicidad tras la infección aguda, en comparación con 33-50% en pacientes con otros genotipos ²⁰.

El papel de los genotipos en la progresión de la enfermedad ha sido una de las áreas que ha ocasionado más controversia en la investigación del VHC. Los estudios iniciales, mostraban que los pacientes con hepatitis crónica por VHC genotipo 1b presentaban una enfermedad hepática más grave y con un curso más agresivo que la que presentaban pacientes infectados por otros genotipos. De igual forma, el genotipo 1b era más prevalente entre los pacientes con cirrosis, y entre los pacientes con cirrosis descompensada tributarios de trasplante hepático que entre aquéllos con hepatitis crónica C. Todo ello puede sugerir, si bien por una evidencia indirecta, que existe una estrecha relación entre el genotipo 1b y el desarrollo de estas complicaciones. Además, también se ha propuesto una posible relación entre la infección por el genotipo 1b y el desarrollo de carcinoma hepatocelular, al encontrar una alta prevalencia de este genotipo entre los pacientes con este tumor.

No obstante, en otros estudios donde se controlaron otros factores que pueden influir en la progresión de la fibrosis, o se tuvo en cuenta el tiempo de duración de la infección, los genotipos del VHC se distribuyeron de forma homogénea entre los pacientes con enfermedad hepática leve o avanzada. Después de ajustar las diferencias en la duración de la infección por el VHC, los genotipos del VHC se distribuyeron por igual entre los pacientes con enfermedad hepática leve o avanzada. Ello está en consonancia con que los pacientes con infección por el genotipo 1b y enfermedad hepática más avanzada, son los pacientes de mayor edad, con mayor tiempo de progresión de la infección, que los pacientes infectados

por otros genotipos. Ello implica que el genotipo 1b es un marcador de enfermedad hepática avanzada porque refleja más un período de infección más largo que una forma más agresiva de hepatitis C. En este sentido, Zein ²⁰ publicó un estudio que sugería que el primer genotipo introducido en Estados Unidos fue el genotipo 1b, al mostrar que todos los pacientes infectados antes de 1955, la infección estaba ocasionada por el genotipo 1b, que posteriormente ha sido el más prevalente, y que los genotipos 2,3 y 4 fueron introducidos en los años 60 y 70 (Figura 4).

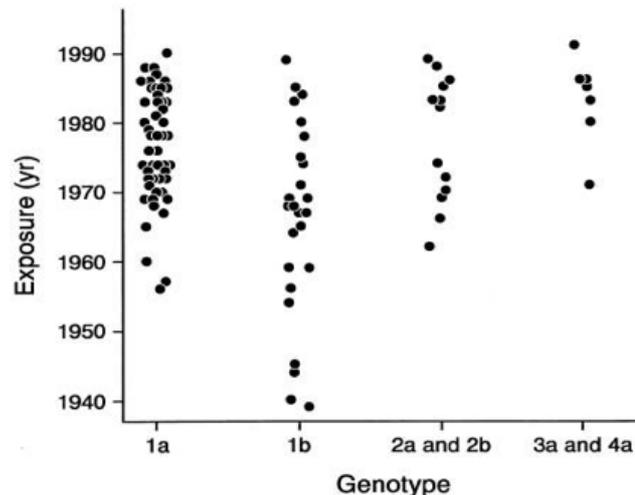


Figura 4. Tiempo de adquisición de VHC según el genotipo. Nizar N. Zein Clin Microbiol Rev 2000;13;223-235.

De hecho, un estudio reciente que analiza la proteína NS4A como marcador de la historia del VHC sugiere que los diferentes genotipos del VHC podrían haber evolucionado originalmente del genotipo 1b ²⁶.

Los pacientes con infección crónica por VHC genotipo 1 presentan una menor posibilidad de respuesta al tratamiento con interferón que los genotipos 2 y 3. Por ello, en dichos genotipos, se han utilizado pautas de tratamiento con dosis inferiores de ribavirina y menor tiempo de duración de tratamiento que las utilizadas en genotipo 1. Posteriormente, la aparición de los inhibidores de la proteasa de primera generación, moléculas exclusivas para genotipo 1 que se administraban junto a interferón y ribavirina, ha producido un aumento de la tasa de respuesta viral sostenida (RVS) en este genotipo, si bien no ha estado exento de múltiples y variados efectos secundarios.

Actualmente, los nuevos agentes antivirales directos que se administran sin interferón permiten conseguir tasas de respuesta superiores al 90% en la mayoría de los casos. Sin embargo, no todos estos agentes antivirales directos son pangenotípicos y determinadas poblaciones como los pacientes con genotipo 3 y enfermedad hepática avanzada se han convertido en los pacientes más difíciles de curar consiguiéndose RVS en sólo el 60% de los casos.

2. HISTORIA NATURAL DE LA INFECCIÓN POR VHC

2.1. Historia natural de la infección aguda por VHC

En la infección aguda por VHC se detecta el ARN-VHC circulante entre 1 y 3 semanas tras el inicio de la infección ²⁷. A nivel analítico se puede observar elevación de los niveles de ALT mayor a 10 veces el límite normal superior entre 4 y 12 semanas tras la infección ^{28,29}, junto a elevación variable de la bilirrubina, lo que confirma la existencia de daño hepatocelular ^{30,31}. Las manifestaciones clínicas de la infección aguda si aparecen, lo hacen entre 2 y 12 semanas después, y son completamente inespecíficas, siendo las más frecuentes el dolor abdominal, la astenia, la febrícula, la anorexia y el prurito. La mayoría de casos, entre el 75-85 %, permanecen asintomáticos o paucisintomáticos ²⁷. En los casos sintomáticos, el síntoma más frecuente y específico es la ictericia ^{32,33}.

La infección por el virus de la hepatitis C cronifica en un porcentaje muy elevado, oscilando entre el 50 y el 90% de los casos ^{31,32,34-41}. Se han demostrado diversos factores que pueden influir en la eliminación espontánea de la infección: el polimorfismo IL-28BCC ⁴²⁻⁴⁴, pacientes con respuesta potente CD4+ ^{27,45}, los niveles séricos bajos de la proteína inducible por interferón (IP-10) ⁴⁶, y un descenso rápido del ARN-VHC en las primeras 4 semanas ⁴⁷. Por otro lado, se han descrito factores de riesgo de cronicidad como una edad superior a 38 años, el sexo masculino y el abuso de alcohol ^{39,40}. En el caso de que se produzca una curación de la infección, ésta ocurrirá alrededor del tercer-cuarto mes, siendo muy improbable a partir del sexto mes ³⁹.

2.2. Historia natural de la infección crónica por VHC

La mayoría de casos de hepatitis C detectados son en la fase crónica, que se define como la persistencia de ARN-VHC más allá de los 6 meses a la exposición al virus ³⁹. En este estadio no suelen haber manifestaciones clínicas, siendo la más frecuente la aparición de astenia que aparece con más frecuencia en hombres y en estadios

de cirrosis ⁴⁸. Sin embargo, la infección por VHC está relacionada con importantes manifestaciones extrahepáticas. Las más frecuentes son la crioglobulinemia mixta esencial, los linfomas no Hodgkin de células B de bajo grado, la glomerulonefritis membranoproliferativa, la porfiria cutánea tarda, el síndrome de Sjögren o la diabetes mellitus tipo 2 ⁴⁹.

La infección crónica por el VHC ocasiona un grado variable de inflamación y fibrosis. Mientras la actividad inflamatoria puede ser fluctuante en el tiempo, el estadio de fibrosis es progresivo pudiendo llegar a ser irreversible. La progresión de la fibrosis es la que finalmente va a ocasionar la distorsión arquitectónica del hígado y el desarrollo de cirrosis. Por estas razones, la tasa de progresión de la fibrosis es la característica definitoria de la historia natural de la hepatitis C crónica. La velocidad a la cual progresa la fibrosis varía de una persona a otra y puede variar con el tiempo (no es lineal). Aunque la infección VHC crónica puede producir fibrosis lentamente y el desarrollo subsiguiente de cirrosis, insuficiencia hepática y carcinoma hepatocelular, la progresión también puede ser rápida. El verdadero pronóstico de la infección por el VHC ha sido objeto de controversia, y los diferentes estudios han explorado el efecto del diseño del estudio, el entorno (comunitario, hospitalario), la población de estudio y los métodos utilizados para estimar la progresión de la fibrosis como fuentes potenciales de variabilidad entre las estimaciones publicadas del pronóstico ^{50,53}.

Algunos estudios publicados sugieren que el pronóstico del VHC es benigno, con desarrollo de sólo un 2%-3% de cirrosis tras 20 años de infección ⁵¹. Otros estudios han publicado pronósticos mucho peores con una probabilidad de desarrollar cirrosis a los 22 años en el 51% de los pacientes ⁵². Poynard y cols ⁵³ publicaron en 1997, un estudio observacional que incluía más de 2200 pacientes no tratados, de los que se disponía de biopsia hepática y fecha de infección conocida. La tasa de progresión de fibrosis por año fue de 0.133 unidades, similar a lo publicado posteriormente. La media de la duración estimada desde el momento de la infección al desarrollo de cirrosis fue de 30 años. En este estudio, un tercio de los pacientes progresarían a cirrosis en un tiempo inferior a 20 años, otra tercera parte no progresaría nunca a cirrosis, o lo haría en un tiempo superior a 50 años (Figura 5).

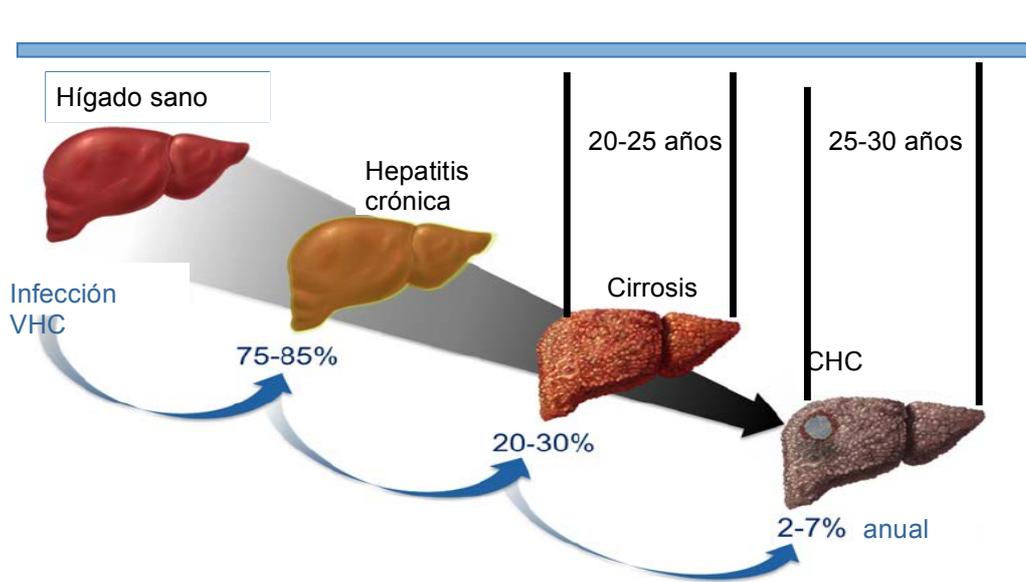


Figura 5. Historia natural de la infección crónica por hepatitis C. Adaptado de Hepatitis C Online.

En 2008 Thein y cols⁵⁴ publicaron un metaanálisis utilizando un modelo de progresión indirecto (modelo de Markov) donde establecían las probabilidades de transición anual de un estadio a otro de fibrosis. A diferencia de estudios previos encontraron que la progresión de la fibrosis no era lineal y que las estimaciones de la tasa de transición eran generalmente más altas en la etapa inicial de F0-F1 (0,117) que en la etapa siguiente (F1 a F2: 0.085). La tasa más alta se encontró en la transición de F2 a F3 (0.120). La prevalencia de cirrosis a los 20 años de la infección fue del 16%.

La cirrosis es la fase terminal de cualquier enfermedad hepática crónica cuya historia natural se caracteriza por una fase asintomática, lo que denominamos cirrosis compensada, seguida de una fase rápidamente progresiva que viene marcada por el desarrollo de complicaciones asociadas a la hipertensión portal y/o a la disfunción hepática como es el desarrollo de ascitis, hemorragia digestiva, encefalopatía o ictericia. La aparición de cualquiera de estas complicaciones marca la transición desde la fase compensada hacia la fase descompensada^{57,58}.

La clasificación de la cirrosis en compensada y descompensada, es simple y reproducible e identifica pacientes con un índice de progresión y supervivencia similares. La supervivencia de los pacientes con cirrosis compensada es significativamente

mayor que la de los pacientes que presentan alguna descompensación, con una supervivencia media superior a los 12 años y alrededor de 2 años, respectivamente, e independientemente del tipo de descompensación presentada ^{60,61} (Figura 6). La transición desde la fase de cirrosis compensada a descompensada sucede con una tasa anual entre el 5 y el 7 % ⁵⁹.

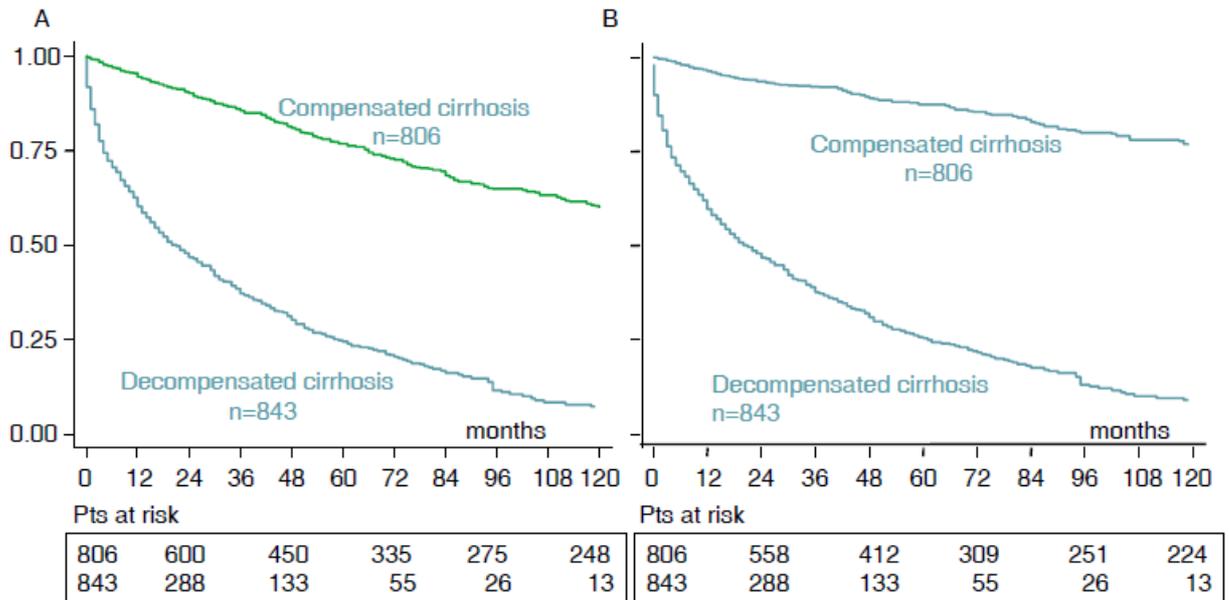


Figura 6. Supervivencia según los pacientes estén compensados o descompensados, tanto en el momento del diagnóstico (A) como durante el seguimiento (B). Adaptado de D'Amico G et al. J Hepatol. 2006 Jan;44(1):217-31.

A partir de datos procedentes de dos grandes estudios de historia natural que incluyeron un total de 1649 pacientes ^{60,61}, se han podido identificar 4 estadios diferenciados de cirrosis, cada uno de ellos con diferentes características clínicas y un pronóstico significativamente diferente (Figura 7).

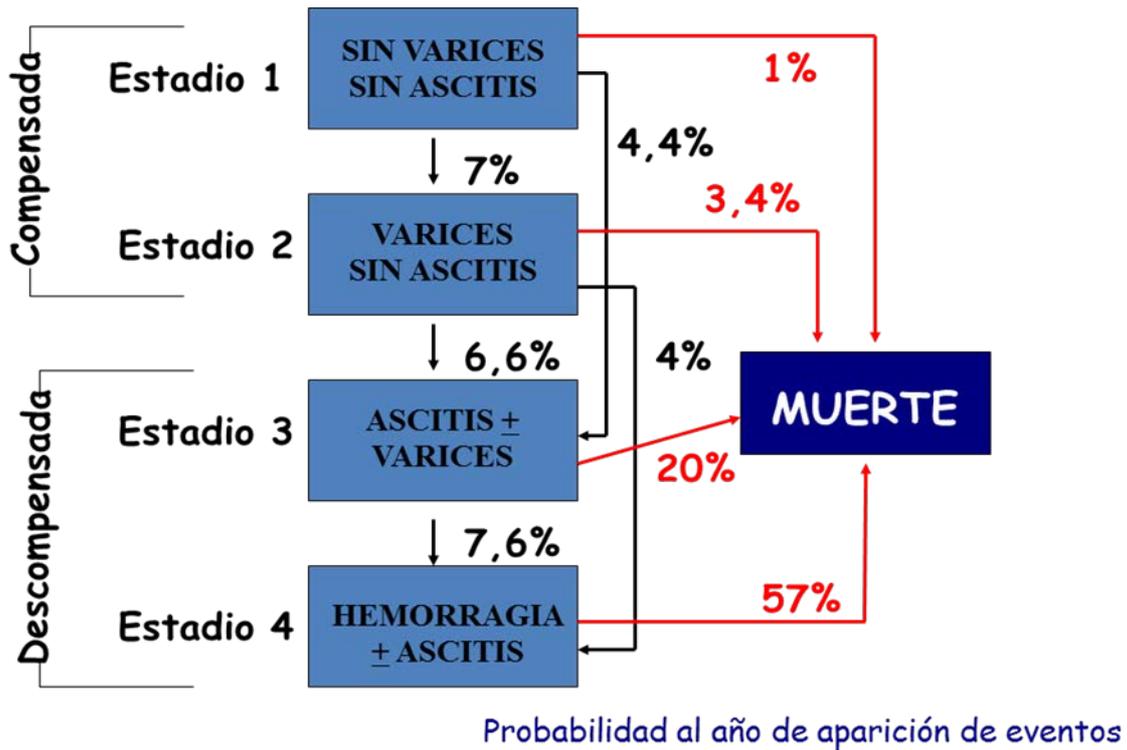


Figura 7. Curso clínico de la cirrosis: probabilidad anual de eventos clínicos según el estadio. Adaptado de D'Amico G et al. J Hepatol. 2006 Jan;44(1):217-31.

El estadio 1 se caracteriza por la ausencia de varices esofágicas y ascitis. Mientras los pacientes permanecen en este estadio la probabilidad de mortalidad es menor al 1% anual. La probabilidad de cambiar de estadio es del 11,4% anual, ya sea por el desarrollo de varices (7%) o por el desarrollo de ascitis sin o con varices.

El estadio 2 se caracteriza por la presencia de varices sin ascitis ni hemorragia. Durante este estadio la mortalidad es del 3,4% por año. Los pacientes cambian de estadio cuando desarrollan ascitis (6,6% anual) y por presentar hemorragia por varices antes o durante la presencia de ascitis con una tasa de 4% anual.

El estadio 3 está caracterizado por la aparición de ascitis con o sin varices esofágicas. La tasa de mortalidad de los pacientes en este estadio es del 20%, muy superior a la mostrada en los dos previos. Los pacientes abandonan este estadio al presentar hemorragia por varices (7,6% anual).

El estadio 4 en pacientes con hemorragia y/o ascitis. La tasa de mortalidad es del 57% al año.

Los estadios 1 y 2 corresponden con pacientes con cirrosis compensada mientras que los estadios 3 y 4 corresponderían a la cirrosis descompensada. El riesgo de aparición de carcinoma hepatocelular se mantiene con una tasa constante del 3% anual, y está asociado a un peor pronóstico independientemente del estadio clínico.

3. FIBROSIS HEPÁTICA

3.1. Mecanismos patogénicos de la fibrosis hepática

La historia natural de la hepatopatía por VHC es de difícil caracterización dado que los estudios son de complicada realización, tanto por la metodología utilizada como por las características de la misma enfermedad. El hígado tiene la capacidad de restaurar su arquitectura y funcionalidad de forma rápida tras un insulto agudo, incluso cuando hay una destrucción importante del órgano. En contraposición, cuando el insulto es crónico y produce un daño hepático constante, ello conlleva una respuesta inflamatoria alterada y por lo tanto un daño cicatricial^{72,73}. La respuesta al daño crónico también incluye procesos de necrosis y/o apoptosis de las células del parénquima y su reemplazo por matriz extracelular. Lo que en principio es un proceso beneficioso para restaurar el daño producido, se transforma en patogénico cuando el parénquima se va reemplazando por tejido cicatricial junto a distorsión de la vascularización hepática, con la posterior aparición de la hipertensión portal y la disfunción del órgano.

Sin embargo, diferentes estudios llevados a cabo en humanos y modelos murinos han demostrado que la fibrosis hepática es un proceso dinámico que puede ser modulado tanto frenando la progresión como promoviendo su resolución. La muerte de las células induce la activación de la inflamación y las vías de la fibrogénesis tanto en células no parenquimatosas como en células del infiltrado inflamatorio, que son las que generan la perpetuación de la progresión de la fibrosis, pero que también se ha observado que son las mismas que contribuyen a la regresión de la misma⁷²⁻⁷⁴.

La respuesta fibrogénica se debe al aumento en la producción y el acúmulo de proteínas en la matriz extracelular (MEC) que es lo que remodela la arquitectura hepática, como son el colágeno fibrilar tipo I y tipo III, los proteoglicanos, la fibronectina y el ácido hialurónico. Las modificaciones que aparecen en la MEC tanto en composición como en contenido tienen consecuencias físicas y mecánicas, así como a nivel

de la función celular. Además, la MEC también actúa como reservorio de mediadores proinflamatorios y profibrogénicos ⁷⁵.

La célula clave en la fibrogénesis a nivel hepático es la célula estrellada hepática o célula de Ito. Las características de la activación de las células estrelladas y su transformación fenotípica en miofibroblastos así como su papel profibrogénico han sido ampliamente estudiadas y han representado una base muy importante para entender el proceso de la fibrogénesis hepática ⁷²⁻⁷⁵. La transición de estas células estrelladas hepáticas en miofibroblastos está regulado por la interacción surgida entre muchos tipos de células y la activación de diferentes vías relacionadas con la reacción cicatricial. Además los hepatocitos dañados, los macrófagos hepáticos, las células endoteliales y los linfocitos producen la activación de las células estrelladas hepáticas. La muerte hepatocitaria libera productos celulares y radicales de oxígeno que activan las células de Kupffer. Estos macrófagos liberan factores proinflamatorios como el TNF α , IL1B, y IL-6, y factores profibrogénicos, sobretudo TGF β . El estrés oxidativo además de contribuir a la formación de tejido cicatricial, contribuye al proceso de fibrogénesis frente al daño crónico, y a la sobreexpresión de genes relacionados con la remodelación de la MEC.

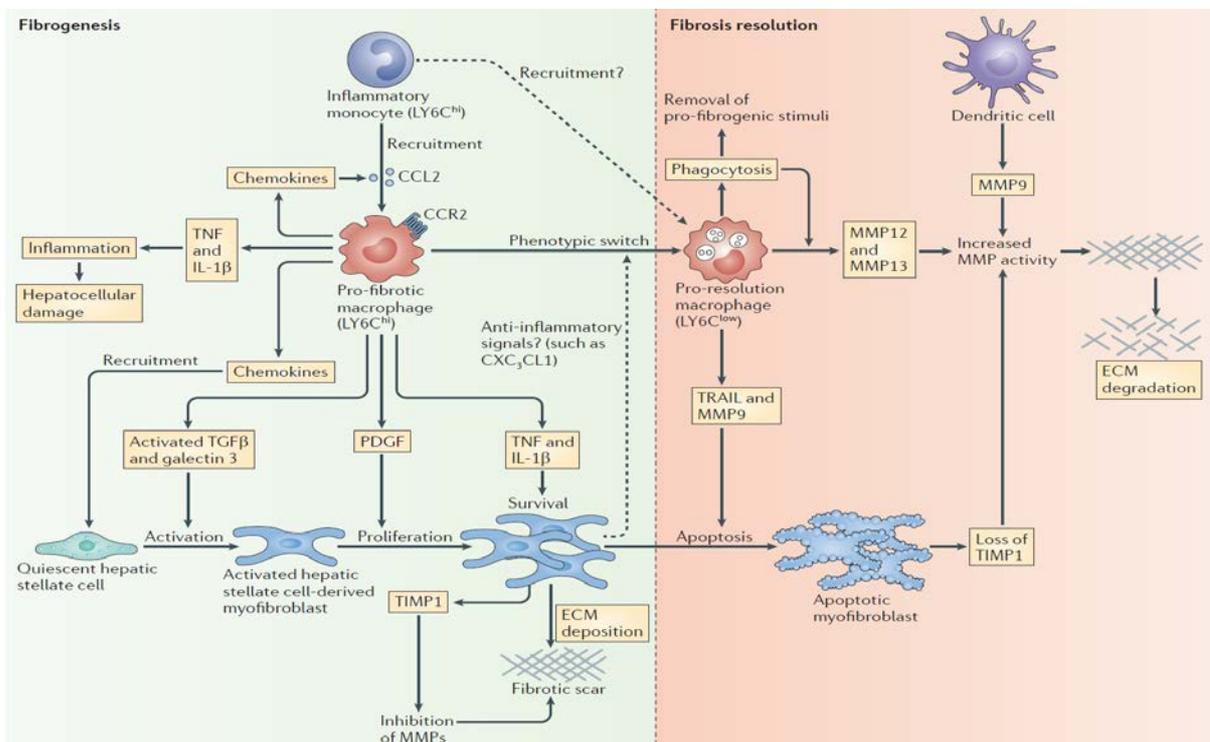


Figura 8. La dualidad de los macrófagos en la fibrosis hepática. Extraído de Pellicoro A. et al. Nat Rev Immunol. 2014;14(3):181-94.

En los últimos años el interés se ha centrado en el estudio del microambiente profibrótico del hígado, sobretodo en el papel de la inmunidad y en especial los macrófagos, en la regulación de la progresión y la regresión de la fibrosis, tal y como se explica en la figura 8 ⁶⁵. Estas células tras un daño agudo coordinan la respuesta de regeneración hepática. Sin embargo, durante el daño crónico, las células de Kupffer estimulan la progresión de la fibrosis mediante la activación de las células estrelladas hepáticas y la afluencia de células del sistema inmune derivadas de la médula ósea a través de la liberación de CCL2 y CCL5 ⁷⁶. Así, el reclutamiento de monocitos inmaduros derivados de macrófagos Ly6Chi es dependiente de la secreción de CCL2 por las células de Kupffer y las células estrelladas ^{77,78}. Sin embargo, los macrófagos Ly6Chi promotores de la inflamación y la fibrogénesis se pueden diferenciar en macrófagos Ly6Clo que activan la resolución y la restauración del proceso de fibrosis. Las vías que permiten esta diferenciación de las células son de alto interés porque un ambiente fibrogénico se transforma en un ambiente que promueve la resolución de la fibrosis.

3.2. Factores de progresión de la fibrosis hepática

Se han identificado múltiples factores que impactan en la evolución de la hepatitis crónica por VHC, algunos de ellos relacionados con el huésped, otros directamente con el virus y otros de tipo ambiental.

3.2.1 Factores del huésped

Los factores del huésped que se han asociado a una mayor tasa de progresión de la fibrosis son:

Edad en el momento de la infección

La edad de inicio de la infección ha sido de forma consistente, un importante factor que influye en la tasa de progresión de la fibrosis en la hepatitis C, incluso después de ajustar por el tiempo de duración de la infección. Además, aquellos pacientes que

en el momento de la infección tenían una edad mayor de 40 años presentaban una tasa de progresión de la fibrosis más alta ⁵³ (Figura 9).

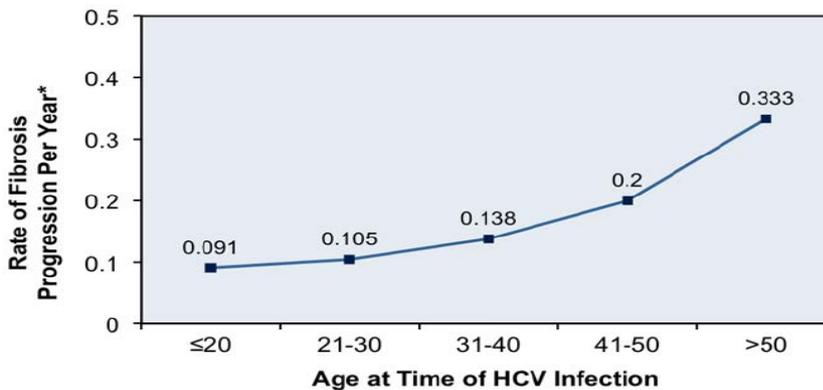


Figura 9. Impacto de la edad en el momento de la infección inicial por VHC y la tasa de fibrosis. Adaptado de Poynard T et al. Lancet 1997;349:825-32.

En otro estudio se observó que la progresión de cirrosis tras 20 años de infección, sólo aparecía en el 2% de los individuos infectados a una edad menor de 20 años y, en cambio, en un 63% de aquéllos que se infectaron a partir de la quinta década de la vida ⁸⁶. Utilizando un modelo matemático de progresión, en este estudio se puso de manifiesto que la tasa de progresión de la fibrosis se acelera después de los 50 años de edad, independientemente de la duración de la infección hasta ese momento.

Sexo

Múltiples estudios han puesto de manifiesto que el sexo masculino se asocia de forma independiente a una tasa de progresión más rápida de la fibrosis. Ésta se mantiene del doble de rápido que en las mujeres, aunque se eliminen otros cofactores como pueden ser consumo de alcohol, duración de la infección, edad de contagio y factores metabólicos.

Persistencia de actividad necroinflamatoria en forma de brotes de citólisis ⁶²

Se ha observado que los pacientes que presentan ALT superior a 2 veces el valor normal, presentan mayor progresión de la fibrosis a estadios avanzados (F3-F4). Por el contrario, pacientes con ALT persistentemente normales, generalmente presentan grados mínimos de actividad inflamatoria, y mínima o nula fibrosis, con una tasa de progresión a cirrosis muy baja ⁶³.

Presencia de esteatosis hepática y la resistencia a la insulina también se han relacionado con un aumento de la tasa de progresión de fibrosis. La esteatosis se ha relacionado de forma directa con la progresión de la fibrosis. Por otro lado, se conoce la relación directa de la infección por VHC con la resistencia a la insulina. Por todo ello, los individuos con infección crónica por VHC tienen más riesgo que la población general de presentar resistencia a la insulina y diabetes mellitus. Estos dos factores también se han relacionado con un aumento de la fibrosis.

Hiperferritinemia

La existencia de una leve a moderada sobrecarga de hierro se ha asociado a una fibrosis acelerada. Puede estar presente en el 30-40% de los pacientes y parece estar ocasionada por la misma actividad inflamatoria y posiblemente por el propio virus al interferir en el transporte del hierro ⁶⁴. Además, se ha descrito que pacientes con hepatitis crónica C y hemocromatosis tanto hereditaria como secundaria presentan una tasa de progresión de la fibrosis más rápida ^{65,66}.

Genotipo IL28B CC

El gen IL28B codifica la interleucina 28, también conocida como interferón lambda. Variaciones en esta región codificante se han asociado con una mayor probabilidad de aclaramiento de la infección. Los SNPs con una asociación más fuerte se detectaron cerca del gen IL28B, uno de los más estudiados es rs12979860. Los individuos que presentan el alelo CC tienen mayor probabilidad de curar la infección que los pacientes con polimorfismo CT o TT.

Sin embargo, en trabajos recientes se ha demostrado que varios SNPs codificantes del genotipo CC en esta zona están relacionados con la inflamación, el daño tisular y la progresión de la fibrosis. Se ha observado que los individuos con hepatopatía crónica con genotipo de riesgo CC presentan un aumento de IFN lambda junto a un aumento de la respuesta celular inmunitaria (linfocitos T y macrófagos) que se correlaciona con la inflamación y los marcadores de fibrosis ⁸⁷ (Tabla 3).

Marcador GWAS		IFN- λ 4- Ser70		Fenotipos	
rs12979860	rs117648444	Expresión IFN- λ 3	Expresión IFN- λ 4	Inflamación y fibrosis	Aclaramiento viral
C	C	Aumentada	Ninguna	Elevadas	Elevado
T	C	Disminuida	IFN- λ 4- Pro70	Disminuidas	Bajo
T	T	Disminuida	IFN- λ 4- Ser70	Disminuidas	Moderado

Tabla 3. Asociación de los diferentes haplotipos con la expresión hepática de diferentes tipos de IFN-lambda, inflamación, fibrosis y aclaramiento viral de VHC. Adaptado de Eslam M. et al. NatureGenetics : April 2017.

Por lo tanto, el polimorfismo CC del IL 28B estaría relacionado con una probabilidad mayor de aclaramiento del virus pero a la vez, también estaría relacionado con mayor riesgo de presentar inflamación, daño hepático y progresión de la fibrosis.

3.2.2 Factores ambientales

Los factores ambientales que favorecen la progresión de la fibrosis son varios, pero uno de los que se ha identificado como un factor de riesgo de progresión a cirrosis en los individuos infectado por VHC es el consumo de alcohol como se observa en la Figura 10. En un estudio realizado en Francia con más de 2000 individuos con infección crónica por VHC, se objetivó que los que presentaban un consumo > 50 gr de alcohol al día se asociaba con un aumento de hasta el 38% en la tasa de progresión de la fibrosis ⁷⁰. En otro estudio, se objetivó un aumento de la fibrosis en pacientes con consumo de riesgo de alcohol (> 40 gr/día para mujeres y > 60 gr/día para hombres) ⁷¹.

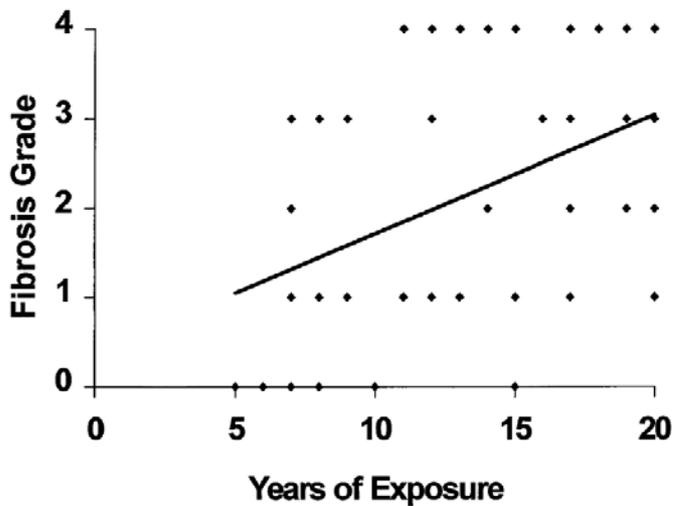


Figura 10. Impacto del consumo excesivo de alcohol en la progresión de la fibrosis hepática. Wiley TE et al. *Hepatology* 1998;;28:805-9.

Además, el consumo de alcohol se ha asociado a una mayor probabilidad de presentar carcinoma hepatocelular y de mortalidad ⁸⁸. Así pues, se ha demostrado que el consumo elevado de alcohol en los pacientes afectados de infección crónica por VHC está asociado de forma directa con una muerte prematura ⁷¹.

Otros factores ambientales que se han relacionado con la progresión de la fibrosis han sido el tabaco y el cannabis ^{57,59-62}, así como la coinfección por virus de la hepatitis B (VHB) y/o virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) ^{70,71}.

3.2.3 Factores virales

Respecto, a los factores virales el genotipo 1b y 3 estarían asociados a un mayor riesgo de aparición de hepatocarcinoma ⁶⁷, en éste último junto a la aparición de esteatosis ^{68,69}. No se ha demostrado que los niveles de ARN VHC tengan impacto en la progresión de la fibrosis.

4. MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA

4.1. Biopsia hepática

La biopsia hepática fue introducida en la práctica clínica por la Dra. Sheila Sherlock en la década de los 40. Esta técnica ha sido y es una importante herramienta en la evaluación de las enfermedades hepáticas crónicas. El pronóstico y el manejo de las mismas dependen tanto de la cantidad y la localización de la fibrosis hepática como del grado de actividad inflamatoria y la necrosis lobular y de la posible etiología de la hepatopatía. Esta información sólo nos la proporciona la biopsia hepática. En la hepatitis C no hay hallazgos histológicos patognomónicos, pero sí que hay rasgos diferenciadores de otras causas de hepatitis.

Aunque la biopsia se considera el “gold standard” para el diagnóstico etiológico y el estadiaje de la fibrosis también tiene ciertas limitaciones. Una de ellas, es la variabilidad intra e interobservador con una tasa de diferencia incluso del 20%⁸⁹. La experiencia del patólogo es crucial para una correcta evaluación del grado de inflamación y del estadio de fibrosis de la enfermedad hepática. Esta carencia se ha intentado mejorar con los diferentes sistemas de evaluación estandarizados. Estos índices que clasifican la actividad inflamatoria y la fibrosis hepática son:

- INDICE DE METAVIR: es el más utilizado en los estudios realizados en infección crónica por VHC, por ser el menos complejo y más reproducible. Es una clasificación semicuantitativa que clasifica en 5 estadios la fibrosis (del 0 al 4) basándose en los cambios de arquitectura normal secundarios al depósito de fibra.
- INDICE DE KNOPELL: es una escala cuantitativa que puntúa de forma más exhaustiva la actividad inflamatoria, pero presenta una gran limitación para la evaluación de la fibrosis.
- INDICE DE ISHAK: se trata de una versión revisada del anterior pero con más

exactitud en la valoración de la fibrosis.

El grado de coincidencia diagnóstica es inversamente proporcional al número de categorías que incluyen, de tal forma que el grado de reproducibilidad inter e intra-observador es excelente para estadificar el grado de fibrosis, y algo inferior para cuantificar el grado de inflamación. De hecho, un estudio sugiere que el grado de experiencia del patólogo influye más en el grado de coincidencia diagnóstica que las características de la biopsia ⁹⁰.

El error de muestra es otra de las limitaciones de la biopsia, ya que representa aproximadamente 1/50000 de la masa hepática total. Esta limitación se explica fácilmente al tratarse de enfermedades difusas que pueden afectar al órgano de forma no homogénea. La forma más frecuente de error suele ser por infraestimación de la lesión, y es más frecuente en pacientes con cirrosis hepática macronodular. Es por esto que el tamaño de la muestra considerado adecuado debe tener entre 20-25 mm de longitud con una media de 16 espacios porta completos, siendo el mínimo de once ^{91,92}.

Otra de las desventajas es el coste y la invasividad de la técnica, que no permite realizar seguimiento periódico. La indicación por parte del médico suele tener una baja aceptación por parte de los pacientes al tratarse de una exploración invasiva, molesta y no exenta de complicaciones que pueden requerir hospitalización en el 1-5% de los pacientes. Además, se ha asociado a una mortalidad que oscila entre 1 de cada 10000 y 1 de cada 12000 biopsias ⁹³.

Por otro lado, la biopsia hepática te proporciona una foto fija, sin poder valorar los cambios dinámicos de la fibrogénesis, a través de la procesos de regresión y progresión. Se han realizado estudios con biopsias pareadas y de seguimiento ^{115,116}, pero el número de pacientes es limitados por las dificultades antes comentadas.

Independientemente de las limitaciones de la biopsia hepática, ésta juega también un papel muy importante en el diagnóstico de las enfermedades hepáticas donde definir el grado de fibrosis no es tan relevante como es el caso de la hepatitis crónica

C. La biopsia hepática puede proporcionar un diagnóstico preciso en aproximadamente el 90% de los casos en que existe una alteración analítica sin causa aparente⁹⁴. Es esencial en el diagnóstico de las alteraciones hepáticas que presentan los pacientes trasplantados, al igual que para diferenciar una esteatosis hepática de una esteatohepatitis no alcohólica en pacientes con enfermedad grasa del hígado. Además, la biopsia hepática puede facilitar el diagnóstico de enfermedades sistémicas que afectan al hígado, como la sarcoidosis, el linfoma o la amilodosis.

La necesidad actual de la biopsia se basa en las recomendaciones de las sociedades científicas. La biopsia hepática se indicará en las siguientes situaciones:

- cuando el conocer un diagnóstico específico nos altere el manejo de la patología (clase I, nivel B).
- cuando el conocer el estadio de fibrosis de la enfermedad hepática incida en el tratamiento a realizar (clase I, nivel B).

En cuanto a las características de la muestra histológica, para que una biopsia sea considerada de alta calidad, las muestras deberían tener una longitud entre 20 y 25 mm, un grosor mínimo de 16 mm, y contener al menos 11 espacios porta (clase I, nivel C). Además los métodos utilizados para su clasificación han de ser simples como el índice de METAVIR (clase I, nivel C).

Sin embargo, la biopsia hepática nos muestra una imagen estática de los fenómenos de inflamación y fibrosis, procesos que claramente son dinámicos en el tiempo. La necesidad de realizar una valoración dinámica de la enfermedad hepática y de la fibrosis y las limitaciones de la biopsia hepática es lo que ha llevado al desarrollo de métodos de evaluación no invasivos de la fibrosis.

4.2. Métodos no invasivos de la evaluación de la fibrosis

4.2.1. Índices serológicos de fibrosis

El marcador ideal para evaluar el grado de fibrosis hepática sería aquel que pudiera predecir de forma precisa la presencia o ausencia de fibrosis significativa, fuera específico del hígado, y no estuviera influenciado por el funcionalismo hepático, renal o del sistema reticuloendotelial. Debería ser asequible, fácilmente reproducible con una baja variabilidad entre diferentes laboratorios y fácil de realizar. Además de determinar el estadio de fibrosis existente, también debería reflejar el balance dinámico en el depósito y degradación de la matriz extracelular hepática y poder ser aplicable en enfermedades hepáticas de diferente etiología ⁹⁵.

Los marcadores séricos son la combinación de varios parámetros clínicos y analíticos que se han optimizado para reflejar el grado de fibrosis hepática evaluado por biopsia hepática. Estos marcadores pueden estar implicados directamente en la remodelación de la fibrosis hepática como ser resultado de la misma.

Se pueden clasificar en :

- indirectos: basados sobre pruebas diagnósticas hematológicas de rutina. Los más estudiados y utilizados son:
 - Índice de APRI: es el más estudiado de los métodos indirectos. Basado en una fórmula sencilla con parámetros analíticos de rutina como el nivel de AST y el recuento plaquetar. El objetivo de este índice es predecir la fibrosis significativa (índice Ishak ≥ 3) y cirrosis (índice Ishak 5-6). Wai y col ⁹⁶ utilizaron dos valores de corte diferentes para excluir o predecir fibrosis significativa ($<0.5/\leq 1.5$) lo que permitió realmente diagnosticar o excluir la existencia de fibrosis significativa en aproximadamente el 50% de los pacientes, y el diagnóstico de cirrosis en el 81%.
 - Índice de Forns ⁹⁷: modelo simple basado en datos analíticos de rutina como son las plaquetas, la GGT, el colesterol y la edad. Se diseñó para diferenciar

fibrosis significativa (METAVIR F2-F4) vs. fibrosis no significativa en pacientes con hepatitis crónica por VHC. Aplicando la fórmula matemática, una puntuación inferior a 4,2 excluye con elevada precisión la existencia de una fibrosis avanzada con un VPN del 96%, pudiendo obviar la realización de la biopsia hepática en un tercio de los pacientes. Además, este índice ha sido validado en otros estudios posteriores confirmando que una puntuación inferior a 4,2 tiene un VPN del 89% siendo de gran utilidad para identificar pacientes con fibrosis poco avanzada⁹⁸. Sin embargo, alrededor del 50% de los pacientes con hepatitis crónica C no pueden ser clasificados con el índice de Forns.

- directos y/o mixtos: miden componentes profibróticos en el suero del paciente solos o en combinación con los indirectos de acuerdo a modelos matemáticos.

- Fibrotest®⁹⁹: es el índice más estudiado y validado tanto en VHC como en otras hepatopatías crónicas. Además de la edad y el sexo, incluye la determinación de marcadores rutinarios como la bilirrubina, GGT y ALT, junto con otros no habituales en la práctica clínica diaria y que pueden hacer su aplicabilidad más limitada, como la apolipoproteína A1, haptoglobina y α 2-macroglobulina. Estos parámetros combinados en una fórmula matemática disponible en Internet (<http://www.biopredictive.com>) ofrecen una alta fiabilidad para excluir fibrosis significativa. Aunque en estudios procedentes del mismo grupo que comercializó el Fibrotest®, éste parecía tener una mayor capacidad para discriminar pacientes con fibrosis avanzada que el índice de Forns con un valor predictivo positivo del 90 y 77% respectivamente¹⁰⁰, en estudios posteriores realizados por autores independientes estos resultados no han sido tan significativos¹⁰¹. De hecho el 21% de los pacientes con fibrosis significativa por Fibrotest® tenían sólo cambios mínimos en la biopsia hepática, y el 18% de los pacientes en los que no se sospechaba fibrosis significativa presentaban fibrosis avanzada.

- Fibrometer®: también mixto combina concentraciones séricas de ácido hialurónico, tiempo de protrombina, plaquetas, AST, α 2- macroglobulina, urea

y edad, con una fórmula ajustada a la etiología de la hepatopatía. Tiene una utilidad similar a los marcadores indirectos para diferenciar estadios F0/1 de F2 a F4, con la ventaja de que disminuye el número de pacientes que no podrían ser clasificados al 30% ⁹⁸.

- Enhanced Liver Fibrosis score® (ELF): combina ácido hialurónico, MMP-3 y TIMP-1 ¹⁰². La elección de estos tres marcadores fue el resultado del análisis de 9 marcadores de fibrosis en 1021 pacientes con enfermedad hepática de diferente etiología. Con los tres marcadores y la edad, se desarrolló un algoritmo que permite diferenciar pacientes con fibrosis poco significativa, de aquéllos con fibrosis avanzada identificados con el índice de Scheuer, con una eficacia similar a la conseguida por índices de más fácil obtención. Además, al igual que sucede con los índices que incluyen marcadores indirectos, su mayor eficacia es en los extremos de fibrosis. Lo más interesante de este índice es que también ha sido utilizado en pacientes con hepatopatía crónica de etiología diferente a la infección por el virus de la hepatitis C.

4.2.1.1 Fiabilidad de los índices serológicos

Estos índices ofrecen una serie de ventajas como son la alta aplicabilidad (>95%), la reproducibilidad entre laboratorios, y la disponibilidad generalizada de aquéllos no patentados. Por otro lado, no son específicos del hígado, no discriminan de forma fiable entre las fases intermedias de fibrosis y, además, sus resultados pueden verse afectados con diferentes situaciones que pueden modificar los parámetros utilizados. Algunas de estas situaciones pueden ser la hemólisis, el Síndrome de Gilbert, procesos inflamatorios sistémicos y/o patologías con repuntes de transaminasas.

4.2.1.2. Rendimiento de los índices serológicos

El rendimiento diagnóstico de los biomarcadores séricos de fibrosis se resumen en la Tabla 4 ¹⁰³. Estos biomarcadores son menos precisos para la detección de fases intermedias de fibrosis que de cirrosis, siendo mejor para la detección de ésta última.

El APRI que es un índice gratuito y el Fibrotest® que es patentado, han sido los más utilizados y estudiados de todos los disponibles. En múltiples estudios y metaanálisis realizados, comparando ambos índices entre ellos y/o con biopsia hepática, presentaron un ABC para detección de fibrosis significativa y cirrosis alrededor de 0,8.

Tabla 4. Rendimiento diagnóstico de la ET para fibrosis significativa ($F \geq 2$) y cirrosis (F4) en pacientes con hepatitis por VHC. Adaptada de EASL Guidelines. J. Hepatology 2015; 63; 237-264.

Autores	Etiologías	Año	Pacientes (n)	F \geq 2 (%)	F4 (%)	Puntos corte (kPa)	AUROC	S (%)	E (%)	CC (%)
Castera <i>et al.</i> [126]	VHC	2005	183	74		7,1	0,83	67	89	73
						12,5	0,95	87	91	90
Arena <i>et al.</i> [86]	VHC	2008	150	56		7,8	0,91	83	82	83
						14,8	0,98	94	92	92
Lupsor <i>et al.</i> [128]	VHC	2008	324	65		7,4	0,86	76	84	79
						11,9	0,94	87	91	90
Wang <i>et al.</i> [134]	VHC	2009	214	42		9,5	0,82	70	83	n.a.
						12	0,93	79	85	n.a.
Degos <i>et al.</i> [124]	VHC	2010	913	62		5,2	0,75	90	32	57
						12,9	0,90	72	89	87
Zarski <i>et al.</i> [125]	VHC	2012	382	47		5,2	0,82	97	35	64
						12,9	0,93	77	90	88

En definitiva, la mayoría de los marcadores séricos disponibles no pretenden conseguir un diagnóstico exacto de la enfermedad hepática como lo puede hacer la biopsia, sino dar alguna indicación de la existencia o no de una fibrosis avanzada, por lo que la información que podemos obtener de los marcadores puede ser equivalente a la que nos ofrece la biopsia para decidir o no la indicación de tratamiento. Probablemente, el mejor test sería aquel capaz de identificar pacientes en los que existe progresión de la fibrosis aunque la enfermedad hepática esté compensada.

4.2.2. Elastografía de transición

La elastografía hepática es una técnica no invasiva que se caracteriza por ser fácil, rápida, reproducible y fiable, por lo que ha pasado a ser una herramienta indispensable en la evaluación y monitorización del grado de fibrosis de los pacientes con infección crónica por VHC.

La técnica se basa en un mecanismo que genera una onda mecánica de baja frecuencia (50 Hz) y amplitud desde la pared torácica hacia el parénquima hepático

provocando una onda elástica de propagación a través del tejido. La velocidad a la que se propaga esta onda es medida a través de un transductor de ultrasonidos: a mayor rigidez, mayor velocidad. El grado de elasticidad se calcula a partir de la velocidad de propagación que se mide en kilopascales (kPa) y se correlaciona con el grado de fibrosis. Ésta se realiza con el paciente en decúbito supino, con el brazo derecho elevado para facilitar el acceso al lóbulo hepático derecho. La sonda se contacta con la piel entre el 9º y 11º espacio intercostal, lugar donde se realizaría la biopsia hepática.

El fibroscan realiza el cálculo sobre un cilindro de aproximadamente 1 cm de diámetro por 4 cm de longitud, entre 25 y 65 mm debajo de la piel, lo que supone un área correspondiente a unas 100 biopsias hepáticas, y por lo tanto, es mucho más representativo de la totalidad del parénquima hepático.

Ziol y col ¹⁰⁴ valoraron la elastografía en 327 pacientes con hepatitis C demostrando que es una técnica adecuada para detectar fibrosis significativa o cirrosis. Un valor de corte de 8,7 kPa puede ser de utilidad para identificar pacientes con estadios de fibrosis \geq a 2 que podrían ser tratados sin necesidad de biopsia previa. De los 101 pacientes que tuvieron una rigidez superior o igual a 8,7 kPa, sólo 9 tenían un F1 en la biopsia y ninguno de ellos era F0. Por tanto la biopsia podría haberse evitado en el 42% de los pacientes incluidos. Un estudio reciente ha combinado la utilización del fibroscan con el Fibrotest© con resultados similares ¹⁰⁵. No obstante, cuando los resultados de fibroscan y Fibrotest© son coincidentes en el mismo paciente, la biopsia hepática confirma los resultados en el 84% de los casos para $F \geq 2$, en el 95% para $F \geq 3$, y en el 94% de los casos para $F \geq 4$.

4.2.2.1. Fiabilidad de la ET

Los criterios que debe cumplir un resultado de ET para ser considerado válido están plenamente establecidos. La determinación se considera válida si tiene:

- un mínimo de 10 disparos válidos
- una tasa de éxito $> 60\%$ (relación de disparos válidos respecto a disparos realizados)

- un rango intercuartil (IQR) < 30% de la mediana (M) de las medidas de rigidez hepática (IQR/M \geq 30%).

La ET tiene una serie de ventajas como un tiempo de procedimiento corto, con obtención de resultados de forma inmediata, la posibilidad de realizar la técnica en la consulta y, que al no ser una prueba compleja tras un período relativamente corto de entrenamiento puede ser realizada por una enfermera o técnico. Esta exploración tiene una excelente concordancia inter- o intra-observador, aunque su aplicabilidad no es tan buena en comparación con los biomarcadores séricos. Se han realizado diversos estudios con un gran número de pacientes donde se observó que entre el 2,7 y 3,1% de los casos la determinación no fue exitosa, sin poder obtenerse ningún valor y en el 11,6-15,8% los resultados no eran fiables. En un estudio con más de 1000 pacientes con hepatopatía crónica, de los cuales más de 700 tenían hepatitis crónica por VHC, tomando la biopsia hepática como referencia, en el análisis multivariado las dos variables significativas para valorar la fiabilidad de la ET fueron el IQR/M y el valor de la elasticidad hepática. Por lo tanto, aquellas medidas con un IQR/M >30% y un valor de EH \geq 7,1 kPa eran poco fiables, y en cambio, la mayor fiabilidad de la técnica se observó en el grupo con IQR/M <10%, independientemente del valor de EH ¹⁰⁷.

La ET también tiene una serie de desventajas como la imposibilidad de realizar una medición fiable en pacientes con ascitis, espacios intercostales estrechos y en pacientes obesos. La sobreestimación de los valores se tiene que considerar en casos de esteatosis, si existe elevación de transaminasas, consumo excesivo de alcohol, colestasis extrahepática, insuficiencia cardíaca congestiva, y con la ingesta de alimentos.

Algunas de estas limitaciones se han intentado resolver con la aparición de la sonda XL, y tal como hemos demostrado en nuestro grupo, tras una valoración y clasificación adecuada de los pacientes se puede conseguir una medida fiable en más del 90% de la muestra ¹⁰⁸.

Por otro lado, la interpretación clínica de los resultados de la ET debe realizarse de forma crítica y por un experto con conocimientos no sólo de la técnica si no de los datos del paciente, la etiología de la hepatopatía y los parámetros analíticos.

4.2.2.2. Rendimiento de la ET

El rendimiento de la ET para el estadiaje de la fibrosis hepática se muestra en la tabla 5 para fibrosis significativa y cirrosis en pacientes con hepatitis C. Los dos primeros estudios que mostraron una excelente relación entre el estadio de fibrosis METAVIR y la rigidez hepática fueron realizados en hepatitis C. Sin embargo, hay que tener en cuenta que pese a los altos valores de ABC, los valores de RH se superponen entre los diferentes estadios de fibrosis sobretodo en etapas iniciales. Así, pues el ABC de la técnica aumenta en proporción al grado de fibrosis, con un ABC cercana al 1 para detección de cirrosis hepática. En definitiva, la ET tiene mejor rendimiento para detectar cirrosis que fibrosis significativa, y descartando cirrosis que confirmándola, con VPN superior al 90%.

Tabla 5. Rendimiento diagnóstico de la ET para fibrosis significativa ($F \geq 2$) y cirrosis (F4) en pacientes con hepatitis por VHC. Adaptada de EASL Guidelines. J. Hepatology 2015; 63; 237-264.

Autores	Etiologías	Año	Pacientes (n)	$F \geq 2$ (%)	F4 (%)	Puntos corte (kPa)	AUROC	S (%)	E (%)	CC (%)
Castera <i>et al.</i> [126]	VHC	2005	183	74		7,1	0,83	67	89	73
					25	12,5	0,95	87	91	90
Arena <i>et al.</i> [86]	VHC	2008	150	56		7,8	0,91	83	82	83
					19	14,8	0,98	94	92	92
Lupsor <i>et al.</i> [128]	VHC	2008	324	65		7,4	0,86	76	84	79
					21	11,9	0,94	87	91	90
Wang <i>et al.</i> [134]	VHC	2009	214	42		9,5	0,82	70	83	n.a.
					19	12	0,93	79	85	n.a.
Degos <i>et al.</i> [124]	VHC	2010	913	62		5,2	0,75	90	32	57
					14	12,9	0,90	72	89	87
Zarski <i>et al.</i> [125]	VHC	2012	382	47		5,2	0,82	97	35	64
					14	12,9	0,93	77	90	88

5. TRATAMIENTO ANTIVIRAL Y VHC

5.1. Perspectiva histórica del tratamiento antiviral

El tratamiento antiviral del VHC se ha visto transformado de forma rápida y radical en los últimos años. El objetivo del tratamiento antiviral es conseguir la respuesta virológica sostenida, o sea, la curación de la infección.

El tratamiento para la hepatitis por virus C se inició poco después de su descubrimiento y se basaba en una pauta de interferón durante 24 semanas que posteriormente se aumentó a 48 semanas, con un 6% y un 13% de RVS, respectivamente ¹⁰⁹. A finales de la década de los 90, se añadió al tratamiento la ribavirina aumentando la RVS global al 41% ¹¹⁰. La entrada del interferón pegilado en el tratamiento junto a la ribavirina mostró en los trabajos pivotaes un aumento hasta el 61% de RVS ¹¹¹. Tras múltiples esfuerzos para aumentar la tasa de curación se realizaron estudios que demostraron que un aumento en la duración del tratamiento, en la dosis de ribavirina o la optimización de efectos secundarios podían aumentar la RVS.

La entrada al mercado de los inhibidores de proteasa de primera generación (telaprevir/boceprevir) incrementaron la tasa de curación de forma global y permitieron el retratamiento de aquellos pacientes no respondedores o recaedores con genotipo 1. Sin embargo, la mayor frecuencia y gravedad de efectos adversos promovió diversos estudios para valorar y optimizar el mejor perfil del paciente.

En la actualidad, la llegada de los fármacos antivirales de acción directa de forma masiva ha cambiado de forma radical el actual escenario. Las pautas terapéuticas actualmente son simples, con pocos efectos secundarios, para todos los genotipos y con una tasa de RVS superior al 90%. Esto nos ha permitido el re-tratamiento de muchos pacientes con fibrosis significativa y cirrosis, que no habían respondido al tratamiento o que no se habían podido tratar por alguna contraindicación a los tratamientos previos.

En nuestra comunidad autónoma, en el momento actual no está permitido el tratamiento para aquellos pacientes sin fibrosis o con fibrosis no significativa dado el elevado coste de los mismos y la priorización de enfermos con hepatopatía avanzada o fibrosis significativa. La curación de estos pacientes en fases iniciales podría disminuir la carga de nuestras consultas y evitar que puedan avanzar a grados de fibrosis significativa a medio plazo.

5.2. Impacto del tratamiento antiviral en la evolución del VHC

La evolución de la lesión histológica y de los eventos clínicos de la hepatitis C ya han sido explicados en anteriores apartados. La importancia del tratamiento antiviral y de alcanzar la RVS se han evaluado en múltiples estudios. Esta valoración se ha realizado tanto de parámetros clínicos, analíticos como histológicos. Se han utilizado todos los métodos de diagnóstico y seguimiento para valorar cual es la evolución de la infección por VHC tras el tratamiento antiviral y, especialmente, en los pacientes que consiguen la curación.

Se han realizado múltiples estudios para valorar el impacto de la RVS en la historia natural de la infección por VHC. En algunos se ha realizado valoración de la evolución de parámetros analíticos que pueden traducir enfermedad hepática como son la ALT o el recuento de plaquetas, observándose una mejoría significativa de los mismos durante el seguimiento ¹¹⁶. En ese mismo estudio, se valoró la progresión de los índices serológicos de fibrosis, en este caso el APRI. El índice de APRI fue elevado (>0,8) en 53% de los pacientes antes del tratamiento. En el seguimiento, el APRI fue normal en todos los pacientes, con un valor significativamente menor que en el pretratamiento ($p < 0,001$). También se ha realizado una valoración de la histología para objetivar si tal y como se había postulado se podía obtener una regresión de la fibrosis tras conseguir la respuesta al tratamiento antiviral. George y colaboradores ¹¹⁷, en su trabajo, con 49 pacientes a los que se les realizaron biopsias pareadas 6 meses antes del tratamiento y en el seguimiento tras la curación, valoradas de forma ciega por un patólogo, el 80% de las biopsias mostraban disminución en el estadio de fibrosis. Y de éstas el 33% tenían un descenso de 2 estadios de la fibrosis. Los únicos dos pacientes con cirrosis hepática pretratamiento que tuvieron aumento del

estadio de fibrosis, presentaron CHC durante el seguimiento.

Por otro lado, se ha demostrado en diversos estudios el impacto de la RVS en la morbimortalidad de estos individuos. La supervivencia global de los pacientes curados fue similar a la de la población general con un 98,9%, 90,9%, 77% y 62.9%, a los 5, 10, 15 y 20 años de seguimiento, respectivamente. La mortalidad de causa hepática, la descompensación y el CHC mostraban una disminución progresiva de su incidencia a 20 años de seguimiento ¹¹⁵. Van der Meer y colaboradores ¹¹⁸ publicaron un estudio con 530 pacientes, de los cuales 125 consiguieron la RVS y 204 fueron no respondedores. Sesenta y siete (33%) pacientes fueron retratados y presentaron RVS. A nivel de la mortalidad, sólo 13 (7%) pacientes con RVS fallecieron durante el seguimiento, a comparación del 30% de los no respondedores, de los cuales un 70% fallecieron de causa hepática. Ningún paciente del grupo que alcanzó RVS requirió trasplante de hígado, a comparación del grupo no respondedor donde fueron trasplantados un total de 46 pacientes. El riesgo de presentar en 10 años de seguimiento muerte de causa hepática o trasplante hepático fue del 1,9% en SVR y 27,4% en pacientes sin RVS (Figura 11) ¹¹⁷.

El tratamiento antiviral se debería realizar lo antes posible para evitar el riesgo de aparición de CHC y de descompensación de la hepatopatía, que aunque mucho menor en este grupo de pacientes respecto a los no respondedores, no es nula. Es por esto que los pacientes con fibrosis avanzada y cirrosis hepática aunque con el tratamiento antiviral alcancen la RVS deben mantener los controles semestrales para el despistaje de CHC. Además se consigue que la supervivencia global en el grupo de pacientes curados de la hepatitis C sea similar a la población general ^{117,118}.

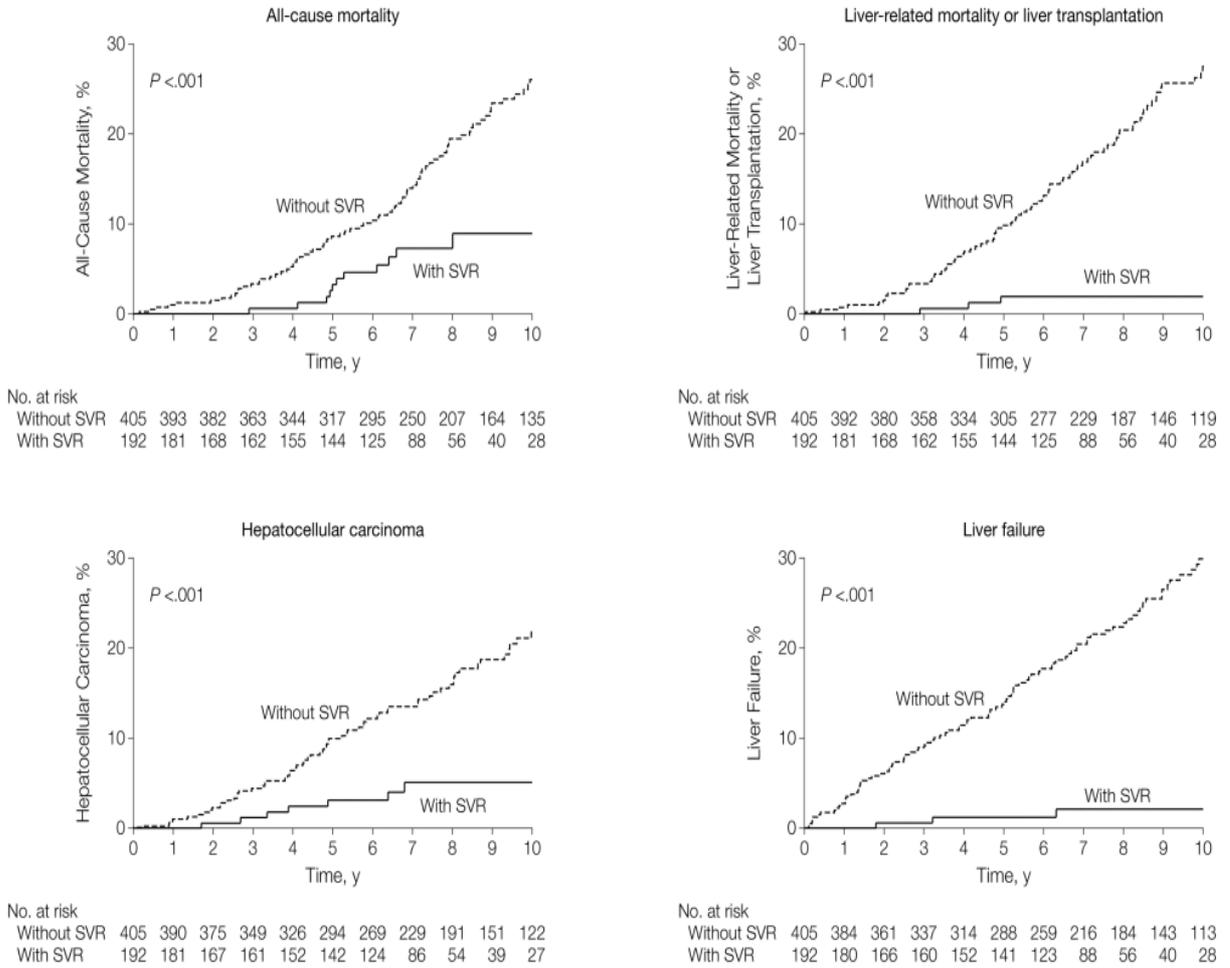


Figura 11. Pacientes con hepatopatía crónica por hepatitis C: asociación entre la respuesta viral sostenida, la mortalidad global y de causa hepática, la aparición de descompensación hepática y carcinoma hepatocelular. Van der Meer. JAMA. 2012;308 (24):2584-2593.

Estudio:

Evolución a largo plazo de pacientes con hepatitis C y fibrosis leve-moderada (F0-2) después del tratamiento antivírico. Importancia de su evaluación mediante biopsia hepática o elastografía.

- Los pacientes con hepatitis C y fibrosis leve-moderada pueden evolucionar a medio plazo a fases avanzadas de la enfermedad.
- La elastografía puede tener una parecida eficacia en la evaluación de la progresión de la fibrosis que la práctica de una biopsia hepática de control.
- La consecución de una respuesta virológica sostenida puede modificar la evolución de la enfermedad incluso en pacientes con fibrosis leve-moderada.
- En pacientes con fibrosis leve-moderada sin respuesta al tratamiento antivírico, la fibrosis continua progresando a largo plazo. Esta progresión puede modificarse mediante el retratamiento de los pacientes.

Objetivos

1. Analizar la progresión de la fibrosis en pacientes con fibrosis leve-moderada evaluada mediante biopsia hepática pareada al inicio y al final del seguimiento o mediante biopsia hepática inicial y elastografía al final del seguimiento. Comparación indirecta de ambos métodos de evaluación de la progresión de la fibrosis.
2. Influencia de la respuesta al tratamiento y de otros factores predictivos en la progresión de la fibrosis y la evolución de la hepatopatía en pacientes con fibrosis leve-moderada.
3. Evolución de la enfermedad a muy largo plazo (supervivencia, incidencia de cirrosis y carcinoma hepatocelular) en pacientes con fibrosis leve-moderada no respondedores al tratamiento con interferón. Influencia del re-tratamiento en no respondedores al tratamiento con interferón.

Material y métodos

Estudio retrospectivo con cohortes prospectivas realizado en la Sección de Hepatología del Servicio de Aparato Digestivo del Hospital del Mar. Se incluyeron pacientes consecutivos con hepatitis crónica C y ARN VHC detectable incluidos en el Registro Electrónico de la Sección de Hepatología entre 1990 y 2011 (CEIC 2016/7105/I Registro Electrónico de la Sección de Hepatología de l'Hospital del Mar). El diagnóstico se realizó mediante biopsia hepática en todos los casos y los pacientes recibieron tratamiento antivírico con interferón en monoterapia o asociado a ribavirina.

Para su inclusión se exigió un seguimiento mínimo de 5 años y un estadio inicial de fibrosis inferior o igual a 2 según la clasificación de METAVIR (METAVIR F0/F2). Se excluyeron pacientes con cualquier enfermedad hepática concomitante (hemocromatosis, enfermedad de Wilson, infección por virus de la hepatitis B y/o virus de la inmunodeficiencia humana, hepatitis autoinmune, alcohólica o por déficit de alfa1-antitripsina), con otra enfermedad con mal pronóstico a corto plazo y en los que la biopsia hepática confirmara fibrosis avanzada (METAVIR F3/F4). De igual forma se excluyeron aquellos pacientes con incapacidad para dar el consentimiento informado para su participación en el estudio y la realización de una biopsia hepática (Grupo 1) o de una elastografía de control (Grupo 2) al finalizar el período de seguimiento.

El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Parc de Salut Mar (Barcelona) y se llevó a cabo de acuerdo con las recomendaciones para "Ensayos Clínicos y Evaluación de Fármacos en el Hombre" que figuran en la Declaración de Helsinki (1964), revisada en Edimburgo (2000) (CEIC 2008/3267/I "Evolución histológica a largo plazo en pacientes con hepatitis crónica C con respuesta virológica sostenida al tratamiento con interferón") y CEIC 2014/9864 "Revisión de las biopsias hepáticas de hepatitis C incluidas en la base de datos de la Sección de Hepatología del Hospital del Mar".

1. Pacientes

En el período 1990-2011 se diagnosticaron mediante biopsia hepática 863 pacientes con hepatitis crónica C, monoinfectados, con estadio de fibrosis F0-F2. Un total de

710 de dichos pacientes realizó tratamiento antivírico con interferón en monoterapia o asociado a ribavirina. El seguimiento superó los 5 años en 599 de dichos pacientes. Finalmente, 291 aceptaron participar en el estudio y la realización de una biopsia hepática (107) o una elastografía (184) al final del seguimiento.

En el momento de su inclusión se evaluaron datos demográficos, clínicos, analíticos (pruebas de función hepática y hemograma) y del VHC (ARN VHC y genotipo). Los pacientes realizaron controles cada 6-9 meses evaluándose datos clínicos, analíticos y ecográficos. A partir del 2011 se incluyó además la elastografía en dichos controles.

En 243 de los pacientes se ha analizado el polimorfismo IL28B con el fin de analizar su influencia en el resultado terapéutico y especialmente la relación de sus diferentes genotipos con la progresión de la fibrosis.

En aquellos pacientes que habían recibido tratamiento antiviral y habían presentado respuesta virológica sostenida se les realizó un seguimiento mínimo de 12 meses tras la obtención de la respuesta. El resto de pacientes fueron controlados hasta el exitus, el trasplante o el fin del estudio.

Al finalizar el estudio 112 de los 153 pacientes que obtuvieron RVS fueron dados de alta. En el grupo de 138 pacientes sin respuesta al tratamiento, 21 no siguieron los controles programados y se perdieron durante el seguimiento. A 160 pacientes se les propuso continuar el seguimiento y realizar un re-tratamiento en los no respondedores que pudiera resultar efectivo. Al final de este nuevo período y hubieran o no sido re-tratados, se practicó una nueva elastografía para evaluar el grado final de fibrosis.

2. Biopsia hepática

Tanto la biopsia hepática inicial como la de control en 107 pacientes se realizaron por vía percutánea con control ecográfico mediante Tru-Cut de 14 Gauge. Las muestras de menos de 15 mm y/o con un mínimo de 6 tractos portales fueron excluidas.

Las biopsias se procesaron en el Departamento de Patología del Parc de Salut Mar utilizando las tinciones de hematoxilina-eosina y tricrómico de Masson.

Tras ello, las muestras fueron anonimizadas con el fin de que el patólogo experto que las revisó no conociera los datos clínicos del paciente ni, en su caso, si se trataba de la biopsia inicial o la de control. Como se ha señalado con anterioridad para su estratificación se utilizó la clasificación de METAVIR (F0 no fibrosis; F1 fibrosis leve; F2 fibrosis moderada; F3 fibrosis severa; F4 cirrosis).

3. Elastografía

La elastografía se realizó según las instrucciones recomendadas por el fabricante del elastógrafo (Fibroscan[®] 502; Echosens. Paris, France) con el objetivo de obtener 10 mediciones válidas. El explorador realizó las mediciones con sonda M y/o XL y contaba con un mínimo de experiencia medio (más de 500 estudios). Los márgenes utilizados fueron F0 < 5,6 kPa, F1 5,6-7 kPa, F2 7,1-9,5 kPa, F3 9,6-14,5 kPa y F4 > 14,6 kPa. En los pacientes con elastografía indicativa de cirrosis se exigía que además presentaran varices esofágicas o esplenomegalia con un nivel sérico de plaquetas inferior a 125×10^3 cel/L.

4. Definiciones y variables analizadas

La progresión de la fibrosis se definió como el incremento en el estadio de fibrosis en uno o más grados. La tasa de progresión de fibrosis directa se definió como la diferencia en el estadio de fibrosis expresado en unidades METAVIR entre ambas biopsias dividido por el tiempo en años entre las dos muestras histológicas.

Como ya se ha señalado con anterioridad la definición de cirrosis se realizó por el diagnóstico histológico de un estadio F4 de METAVIR o por una elastografía con una medición superior a 14,6 kPa. En ambos casos se exigía que además presentaran varices esofágicas o esplenomegalia en la ultrasonografía con un nivel sérico de plaquetas inferior a 125×10^3 cel/L.

El diagnóstico de carcinoma hepatocelular se basó en el hallazgo de una o varias lesiones ocupantes de espacio por ecografía abdominal del hígado junto a estudio radiológico compatible, confirmación histológica y/o elevación significativa de la alfa-fetoproteína sérica (>400 ng/mL), según el caso y la época de diagnóstico.

El desarrollo de descompensación hepática se consideró cuando los pacientes presentaron durante el seguimiento ascitis, encefalopatía hepática, o hemorragia digestiva por varices esofágicas o gástricas confirmada por endoscopia.

5. Análisis estadístico

Las variables cuantitativas se presentan como media y error estándar (ES). Las diferencias entre variables cualitativas se analizan mediante el chi cuadrado y el test de Fisher. Las diferencias entre variables cuantitativas se comparan mediante los test de Student (paramétricos) y ANOVA. Las probabilidades actuariales se calcularon mediante el test de Kaplan-Meier y se compararon mediante el Log-Rank test. Los análisis multivariados se han realizado mediante cálculo de regresión logística lineal y se presentan como Odds ratio; intervalo de confianza 95%; probabilidad. Un valor de $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo. Los cálculos se realizaron mediante el paquete estadístico Statview 5.0@ (SAS Institute Inc.) para Apple Macintosh.

Los datos, demográficos, clínicos y analíticos de los pacientes se han obtenido directamente del Registro Electrónico de la Sección de Hepatología (CEIC 2016/7105/I Registre Electrònic de la Secció d'Hepatologia de l'Hospital del Mar).

Resultados

El estudio incluyó un total de 291 pacientes con hepatitis crónica por VHC confirmada por biopsia hepática practicada entre 1990 y 2011. Las características demográficas, analíticas y virológicas iniciales de los pacientes aparecen en la tabla 1. La mayoría de los pacientes tenían genotipo 1 (67%) que en la mayoría de los casos eran subtipo 1b (85%). El grado de fibrosis era F1 en casi la mitad de los casos mientras que el resto eran F0 o F2 en una proporción similar y cercana al 25%. Los parámetros de función hepatocelular así como los niveles de plaquetas eran los esperados en una población de pacientes con fibrosis leve-moderada.

El seguimiento medio inicial de los pacientes desde la fecha de la biopsia hepática inicial y la evaluación del grado de fibrosis mediante biopsia o elastografía tras el tratamiento fue de casi 9 años con rango entre 5 y 21 años.

Ciento siete pacientes (edad media 48 ± 1 años; sexo masculino, 56,1%; genotipo 1, 67%) fueron incluidos en el estudio de biopsia hepática pareada entre 1990 y 2005 (Grupo 1) y 184 pacientes (edad media $43 \pm 0,8$ años; sexo masculino, 58,1%; genotipo 1, 67%) en el estudio de biopsia hepática inicial y elastografía al final del seguimiento entre 1996 y 2011 (Grupo 2). Los pacientes de ambos grupos presentaban características similares en el momento de su inclusión en el estudio aunque los evaluados mediante elastografía eran más jóvenes y tenían un mayor peso corporal (Tabla 2).

En la biopsia hepática inicial la fibrosis era grado 0 en 87 pacientes (29,9%), grado 1 en 134 (46%) y grado 2 en 70 (24,1%). Veintiocho pacientes (26,2%) del grupo 1 y 59 pacientes (32,1%) del grupo 2 no presentaban fibrosis, mientras que la prevalencia de pacientes con fibrosis grado 1 y grado 2 fue respectivamente de 45 (42,1%) y 89 (48,4%) y de 34 (31,8%) y 36 (19,6%) respectivamente en cada grupo (P: NS).

En la tabla 3 aparecen las características clínicas iniciales de los pacientes según el estadio de fibrosis en la biopsia inicial. Como puede observarse se confirman diferencias significativas entre los estadios de fibrosis en todos los parámetros que indican una hepatopatía más avanzada.

Los pacientes que presentaban una fibrosis inicial más avanzada (F1/F2) tenían con mayor frecuencia el genotipo CC del polimorfismo IL28B, 35,4 y 49,1 % respectivamente que la registrada en los pacientes sin fibrosis (18,3%) (P 0,0003) (Figura 1).

Tabla 1. Características iniciales de los pacientes

Pacientes (n)	291
Edad (años)	45 ± 0,7
Sexo H (n, %)	167 (57,4)
Seguimiento (meses)	107 ± 2,1 (59-255)
Peso (Kg)	72 ± 0,8
IMC (Kg/m ²)	26 ± 0,3
ARNVHC log 10/μl*	2,9 ± 0,04
Genotipo** (n, %)	
1	193 (67)
2	13 (4,5)
3	60 (18)
4	22 (7,6)
AST (UI/L)	57 ± 3
ALT (UI/L)	93 ± 4
gGT (UI/L)	52 ± 3,1
Albúmina (gr/100mL)	4,4 ± 0,02
Protrombina (%)	94 ± 0,4
Colesterol (mg/dL)	168 ± 2,2
Hemoglobina (mg/dL)	14,8 ± 0,1
Leucocitos (x10 ⁹ cel/L)	6592 ± 113
Plaquetas (x10 ³ cel/L)	215 ± 3
Fibrosis (Metavir) (n, %)	
F0	87 (29,9)
F1	134 (46)
F2	70 (24,1)
Polimorfismo IL28B (n, %)***	
CC	82 (33,7)
CT	128 (52,7)
TT	33 (13,6)

* Metodologías de determinación de los niveles séricos ARN VHC no uniformes

** Genotipo no tipable en 4 pacientes

*** Disponible en 243 pacientes

Tabla 2. Características iniciales de los pacientes de ambos grupos

	PBH Grupo 1	Elastografía Grupo 2	P
Pacientes (n)	107	184	
Edad (años)	48 ± 1	43 ± 0,8	0,001
Sexo H (n, %)	60 (56,1)	107 (58,1)	NS
Seguimiento (meses)	111 ± 3,5 (60-255)	105 ± 2,7 (59-219)	NS
Peso (Kg)	69 ± 1,3	73 ± 1	0,01
IMC	25,7 ± 0,4	26,2 ± 0,3	NS
ARNVHC log 10/μl*	2,7 ± 0,07	3 ± 0,05	-
Genotipo**			
1	71 (67)	122 (67)	
2	7 (6,6)	6 (3,3)	
3	19 (18)	41 (22,5)	
4	9 (8,5)	13 (7,1)	NS
AST (UI/L)	58 ± 3	59 ± 4	NS
ALT (UI/L)	95 ± 7	92 ± 6	NS
gGT (UI/L)	48 ± 4	57 ± 5	NS
Albúmina (gr/100mL)	4,4 ± 0,03	4,4 ± 0,02	NS
Protrombina (%)	100 ± 1	98 ± 1	NS
Colesterol (mg/dL)	170 ± 3,7	168 ± 2,8	NS
Hemoglobina (mg/dL)	14,8 ± 0,1	14,8 ± 0,1	NS
Leucocitos (x10 ⁹ cel/L)	6604 ± 144	6565 ± 183	NS
Plaquetas (x10 ³ cel/L)	210 ± 5	218 ± 4	NS
Fibrosis (Metavir)			
F0	28 (26,2)	59 (32,1)	
F1	45 (42,1)	89 (48,4)	
F2	34 (31,8)	36 (19,6)	NS

* Metodologías de determinación de los niveles séricos ARN VHC no uniformes

** Genotipo no tipable en 4 pacientes

Tabla 3. Características iniciales de los pacientes según el estadio de fibrosis

	F0	F1	F2	P
Pacientes (n)	87	134	70	
Edad (años)	41 ± 1	45 ± 1	49 ± 1,3	0,0001
Sexo H (n, %)	43 (49)	79 (54)	46 (64)	NS
Peso (Kg)	68 ± 1	72 ± 1	75 ± 2	0,01
IMC (Kg/m ²)	25 ± 0,4	26 ± 0,4	27 ± 0,5	NS
ARNVHC log 10/μl*	2,9 ± 0,06	2,9 ± 0,06	2,9 ± 0,09	NS
Genotipo** (n, %)				
1	67 (78)	88 (66)	38 (55)	
2	4 (4,6)	6 (4,5)	3 (4,3)	
3	8 (9,3)	28 (21)	24 (34,8)	
4	7 (8,1)	11 (8,3)	4 (5,8)	0,02
AST (UI/L)	47 ± 3	56 ± 3	72 ± 5	0,003
ALT (UI/L)	74 ± 6	91 ± 6	120 ± 2	0,0005
gGT (UI/L)	47 ± 6	54 ± 5	55 ± 5	NS
Albúmina (gr/100mL)	4,5 ± 0,03	4,4 ± 0,03	4,4 ± 0,04	NS
Protrombina (%)	96 ± 0,7	95 ± 0,6	92 ± 1	0,005
Colesterol (mg/dL)	176 ± 4	169 ± 3	157 ± 5	0,008
Hemoglobina (mg/dL)	14,7 ± 0,1	14,8 ± 0,1	15 ± 0,2	NS
Leucocitos (x10 ⁹ cel/L)	6734 ± 214	6636 ± 184	6332 ± 164	NS
Plaquetas (x10 ³ cel/L)	224 ± 5	218 ± 5	205 ± 6	0,05

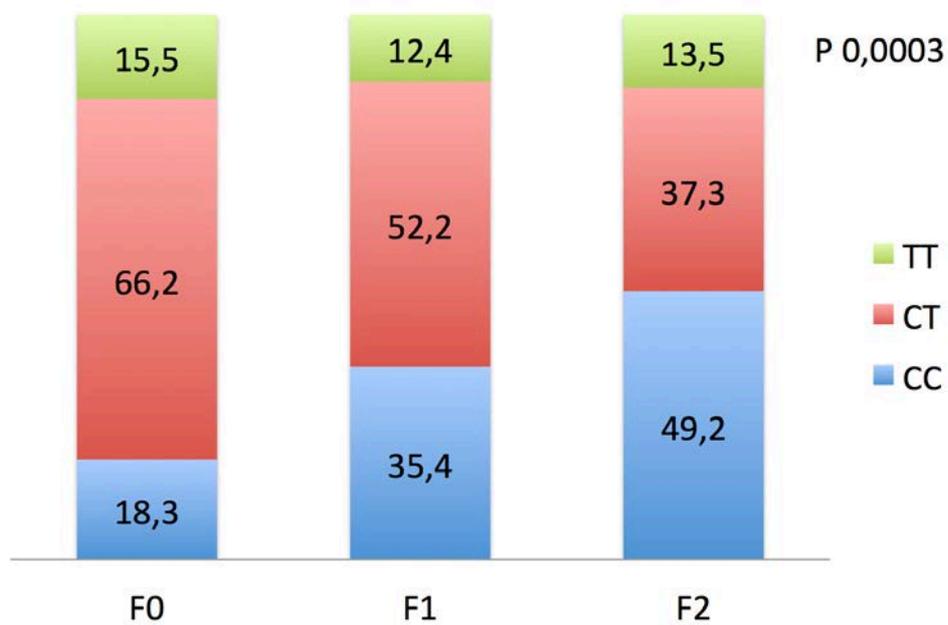


Figura 1. Distribución del polimorfismo IL28B según el grado de fibrosis en la biopsia inicial.

1. Respuesta al tratamiento

Todos los pacientes iniciaron tratamiento antivírico con interferón en monoterapia (84; 28,9%) o en combinación con ribavirina (207; 71,1%) en un período medio de $6,9 \pm 0,6$ meses (Grupo 1) y 10 ± 1 meses (Grupo 2) después de practicarse la biopsia hepática ($P < 0,05$).

Tras el tratamiento presentaron RVS 153 pacientes (52,6%), 52 (48,6%) del grupo 1 y 101 (54,9%) del grupo 2 (P : NS). En la tabla 4 aparecen las características basales y el tipo de tratamiento de los pacientes según presentaron o no RVS (análisis univariado). La RVS se alcanzó con mayor frecuencia en los pacientes con genotipo no 1, con mayor actividad inflamatoria y con mejor estado metabólico así como con el tratamiento combinado. Sin embargo, el grado de fibrosis inicial (F0, F1 o F2) no se asoció con una mayor probabilidad de respuesta al tratamiento antivírico. En el análisis multivariado (RLL) el genotipo 1 (OR 11,4; IC 4,02-33,4; P 0,0001), el uso de tratamiento combinado (OR 5,6; IC 2,9-11,4; P 0,0001), los niveles de GGT iniciales mayores a 36 UI/mL (OR 0,32; IC 0,17-0,59; P 0,003) alcanzaron valor predictivo independiente de RVS. Como era lógico los pacientes con genotipo CC del polimorfismo IL28B presentaron una probabilidad de respuesta al tratamiento mucho mayor (81,7%) que la de los pacientes con CT/TT (34,2%) (0,0001). Creemos importante destacar que los pacientes de ambos grupos de evaluación de la progresión de la fibrosis no presentaron diferencias significativas en la tasa de respuesta al tratamiento (48,6% en el Grupo 1 y 54,9% en el Grupo 2; P : NS).

Tabla 4: Características de los pacientes según respuesta al tratamiento

	RVS	No RVS	P
Pacientes (n)	153 (52,6%)	138 (47,4%)	
Edad (años)	44 ± 1	46 ± 1,2	NS
Sexo H (n, %)	95 (62,1)	72 (52,2)	NS
Peso (Kg)	73 ± 1	70 ± 1,2	0,01
IMC	26 ± 0,4	26 ± 0,4	NS
ARN VHC log 10/μl*	2,91 ± 0,06	2,9 ± 0,05	-
Genotipo**			
1	75 (49,7)	118 (86,1)	
2	10 (6,6)	3 (2,2)	
3	52 (34,4)	8 (5,8)	
4	14 (9,3)	8 (5,8)	0,0001
AST (UI/L)	59 ± 3	55 ± 3	NS
ALT (UI/L)	106 ± 7	78 ± 4	0,002
gGT (UI/L)	42 ± 3	64 ± 5	0,0003
Albúmina (gr/100mL)	4,4 ± 0,03	4,5 ± 0,03	0,02
Protrombina (%)	94 ± 0,6	95 ± 0,6	NS
Colesterol (mg/dL)	160 ± 3	178 ± 3	0,0001
Hemoglobina (mg/dL)	95 ± 1,2	103 ± 3	0,02
Leucocitos (x10 ⁹ cel/L)	14,8 ± 0,1	14,8 ± 0,1	NS
Plaquetas (x10 ³ cel/L)	6652 ± 155	6526 ± 167	NS
Albúmina (gr/100mL)	214 ± 4	216 ± 5	NS
Fibrosis (Metavir)			
F0	34 (22,2)	53 (38,4)	
F1	75 (49)	59 (42,7)	
F2	44 (28,8)	26 (18,8)	0,007
Tratamiento			
IFN monoterapia	23 (15)	60 (43,8)	
IFN/ribavirina	130 (85)	77 (56,2)	0,0001
Polimorfismo IL28B (n, %)**			
CC	67 (81,7)	15 (18,3)	
CT/TT	55 (34,2)	106 (65,8)	0,0001

* Metodologías de determinación de los niveles séricos ARN VHC no uniformes ; ** Genotipo no tipable en 4 pacientes; *** Disponible en 243 pacientes

2. Progresión de la fibrosis

Al final del seguimiento (media $107 \pm 2,1$ meses) la fibrosis había progresado en relación a su estadio inicial en 79 pacientes (27,1%), de los cuales 34 eran del grupo 1 (31,8%) y 45 del grupo 2 (24,5%) (P: NS). En 120 pacientes (41,2%), 40 (37,4%) del grupo 1 y 80 (43,5%) del grupo 2, la fibrosis se mantenía en el mismo grado que en la biopsia inicial. Finalmente, se evidenció una mejoría del grado de fibrosis en 92 pacientes (31,6%), 33 (30,8%) y 59 (32,1%) respectivamente en ambos grupos (P: NS) (Figura 2).

Únicamente 3 pacientes con RVS (1,96%) presentaban una progresión de la fibrosis al final del seguimiento mientras que la progresión en el grupo sin RVS se evidenció en 76 pacientes (55,1%). En la tabla 5 aparecen los datos sobre progresión de la fibrosis según respuesta al tratamiento en cada uno de los grupos.

La tasa de progresión cuantificada por la variación de la puntuación METAVIR por año fue del $0,091 \pm 0,11$ en no respondedores y de $-0,083 \pm 0,08$ en pacientes con RVS (P 0,0001).

Los pacientes que no presentaban fibrosis en la biopsia hepática inicial (F0) presentaron una menor progresión de la fibrosis (F1 9,2%, F2 16,1%, F3 4,6% y F4 3,4%) que la registrada en pacientes con un grado inicial F1 (F1 36,6%, F2 11,2%, F3 8,2% y F4 6%) ó F2 (F1 34,3%, F2 15,7%, F3 10% y F4 14,3%) siendo dichas diferencias estadísticamente significativas (P <0,0001). Estas diferencias fueron mayores en el grupo de 138 pacientes que no presentaron RVS tras el tratamiento antivírico, F0 (F1 15,1%, F2 26,45%, F3 7,5% y F4 5,7%), F1 (F1 37,3%, F2 18,6%, F3 18,6% y F4 13,6%) y F2 (F1 15,4%, F2 19,2%, F3 26,9% y F4 38,5%) (P <0,0001).

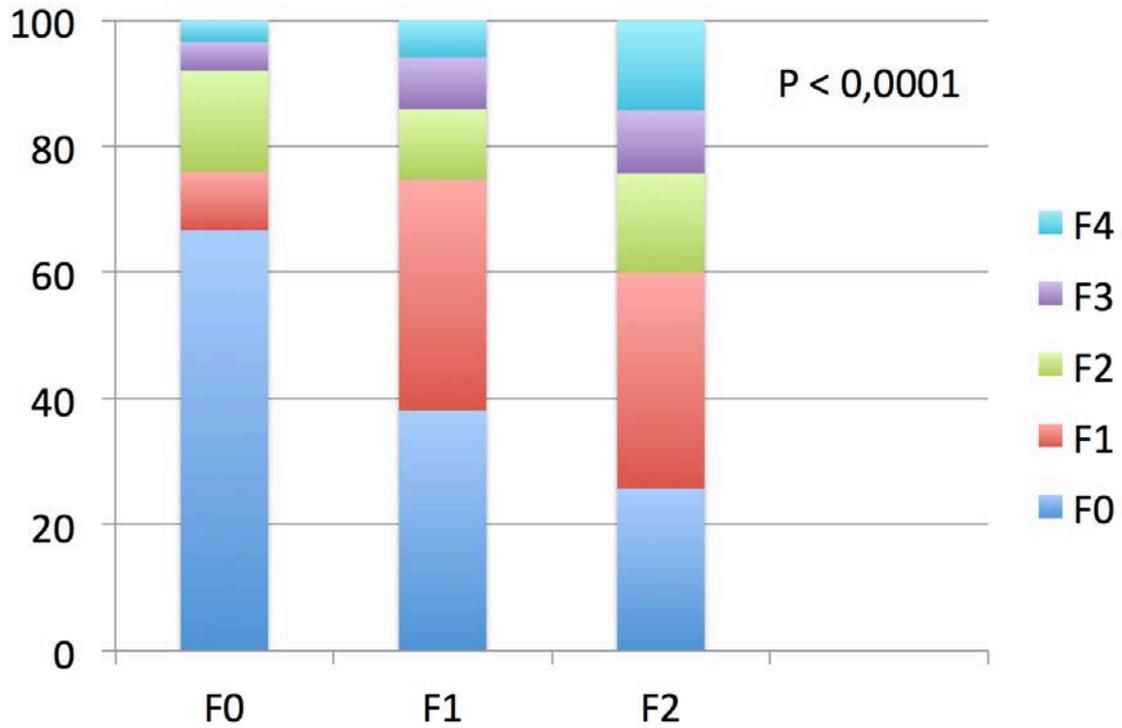


Figura 2. Progresión de la fibrosis al final del seguimiento según el estadio inicial de la fibrosis.

Tabla 5: Evolución de la fibrosis al final del seguimiento en pacientes de ambos grupos según hubieran presentado RVS después del tratamiento.

	Grupo 1		Grupo 2	
	RVS	no RVS	RVS	no RVS
Mejoría	30 (57,7)	3 (5,5)	52 (51,5)	7 (8,4)
Igual	22 (42,3)	18 (32,7)	46 (45,5)	34 (41)
Progresión	0	34 (61,8)	3 (3)	42 (50,6)

P: NS entre ambos grupos y P < 0,0001 entre pacientes con o sin RVS.

En la tabla 6 aparecen las características basales de los pacientes sin respuesta al tratamiento antivírico con y sin progresión de la fibrosis en el segunda evaluación. Los pacientes en que la fibrosis progresó eran más jóvenes y presentaban unos niveles más elevados de AST, ALT y GGT. En el análisis multivariado únicamente un valor elevado de los niveles séricos de GGT (> 61 UI/l) alcanzó valor predictivo independiente de progresión de la fibrosis en los pacientes sin RVS después del tratamiento (OR 0,46; IC 0,21-0,97; P 0,04). No se observó ninguna relación entre la progresión de la fibrosis y el polimorfismo IL28B en los pacientes sin respuesta al tratamiento antivírico.

Tabla 6. Predictores de progresión de la fibrosis en pacientes no respondedores al tratamiento antivírico

	Progresión	No progresión	P
Pacientes (n)	76 (55,1)	62 (44,9)	
Edad (años)	48 ± 1	43 ± 2	0,02
Sexo H (n, %)	38 (50)	34 (54,8)	NS
Peso (Kg)	70 ± 1,5	69 ± 2	NS
IMC	26,2 ± 0,5	26,1 ± 0,6	NS
ARN VHC log 10/μl	2,9 ± 0,06	2,9 ± 0,08	NS
Genotipo**			
1	66 (86,8)	52 (85,4)	
2	2 (2,6)	1 (1,6)	
3	4 (5,3)	4 (6,6)	
4	4 (5,3)	4 (6,6)	NS
AST (UI/L)	65 ± 5	44 ± 5	0,0007
ALT (UI/L)	90 ± 6	64 ± 4	0,001
gGT (UI/L)	75 ± 8	51 ± 7	0,03
Albúmina (gr/100mL)	4,4 ± 0,04	4,5 ± 0,4	NS
Protrombina (%)	96 ± 0,9	94 ± 0,3	NS
Colesterol (mg/dL)	182 ± 4	173 ± 4	NS
Hemoglobina (mg/dL)	108 ± 5	96 ± 2	NS
Leucocitos (x10 ⁹ cel/L)	14,8 ± 0,16	14,7 ± 0,2	NS
Plaquetas (x10 ³ cel/L)	6257 ± 200	6856 ± 272	NS
Albúmina (gr/100mL)	207 ± 7	227 ± 7	NS
Fibrosis (Metavir)			
F0	29 (38,1)	24 (38,7)	
F1	30 (39,5)	29 (46,8)	
F2	17 (22,4)	9 (14,5)	NS
Polimorfismo IL28B (n, %)**			
CC	6 (40)	9 (60)	
CT/TT	46 (43,8)	59 (56,2)	NS

* Metodologías de determinación del los niveles séricos ARN VHC no uniformes

** Genotipo no tipable en 4 pacientes; *** Disponible en 243 pacientes

Un total de 43 de los 138 pacientes presentaron fibrosis avanzada (F3/F4) al final del estudio y 21 presentaron cirrosis al final del seguimiento. En ambos casos se trataba de pacientes no respondedores al tratamiento antivírico siendo en dicho grupo la probabilidad de tener una fibrosis avanzada al final del seguimiento del 31,2 % y de cirrosis del 15,2% (P < 0,0001). En términos de probabilidad actuarial la probabilidad de progresar a una fase avanzada de la enfermedad fue en los no respondedores del 0,7% a los 5 años y del 41,1% a los 10 años (Figura 3). La probabilidad de cirrosis fue en ambos períodos del 0,07 y del 21,2% (Figura 4).

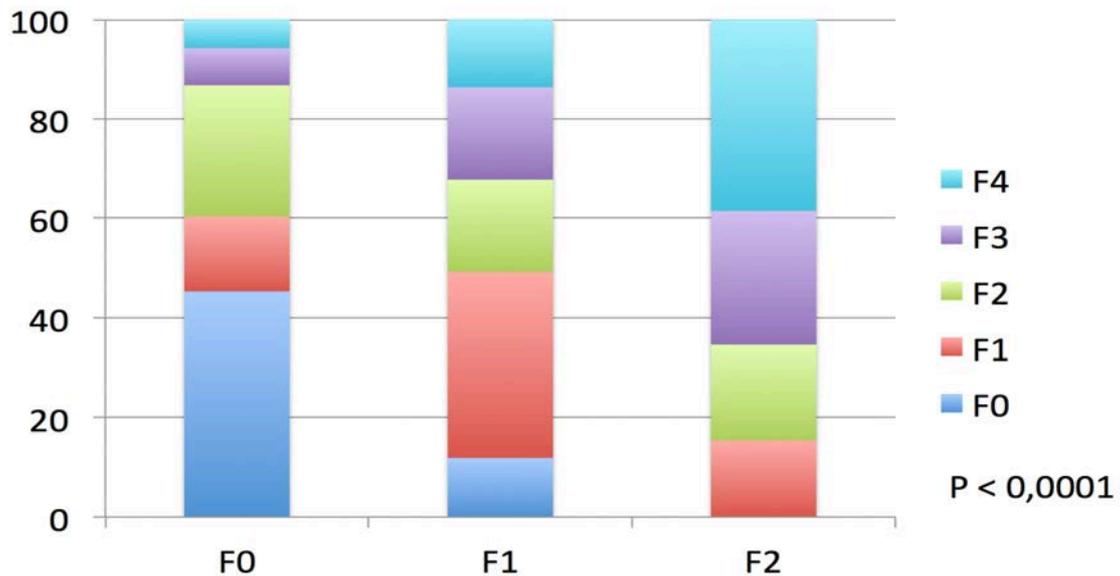


Figura 3. Progresión de la fibrosis al final del seguimiento según el estadio inicial de fibrosis en pacientes que no presentaron RVS tras el tratamiento antivírico

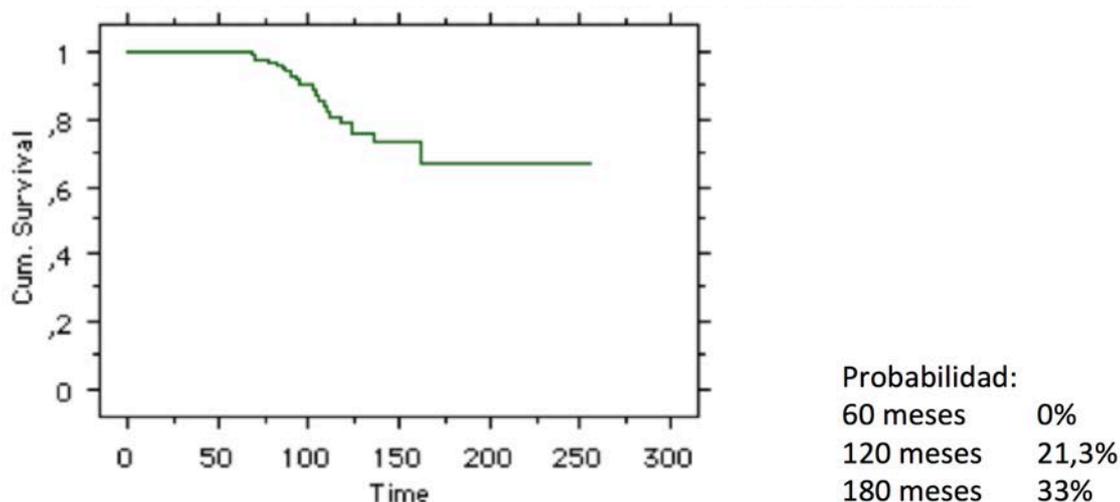


Figura 4. Probabilidad actuarial de desarrollar cirrosis en pacientes con fibrosis leve-moderada que no presentaron RVS tras el tratamiento antivírico

De los 21 pacientes que desarrollaron cirrosis, 12 presentaban varices esofágicas aunque ninguno de ellos llegó a descompensarse durante el seguimiento. Los 9 pacientes restantes presentaban valores superiores a 14 kPa en la elastografía (media $20,7 \pm 2,1$ kPa; rango 15-35), esplenomegalia y niveles de plaquetas de 96 ± 8 (rango 45-123).

Además, 3 pacientes no respondedores desarrollaron un carcinoma hepatocelular durante el estudio. De ellos, 2 presentaban cirrosis en el momento del diagnóstico del tumor. La probabilidad actuarial de CHC fue del 1, y del 5,4% a los 10 y 15 años respectivamente. Ningún paciente de los que presentaron RVS tras el tratamiento presentó CHC ($P < 0,0001$).

En la tabla 7 aparece el análisis univariado de las variables basales de los pacientes no respondedores al tratamiento antivírico que presentaron fibrosis avanzada (F3/F4) al final del seguimiento. Como puede observarse los predictores fueron una mayor edad, unos niveles más elevados de AST y de GGT, unos niveles bajos de

colesterol y un menor número de leucocitos y plaquetas. De igual forma los pacientes que inicialmente presentaban una fibrosis moderada (F2) evolucionaron con mayor a frecuencia a fases avanzadas.

En el análisis multivariado únicamente el presentar un grado moderado de fibrosis en la biopsia inicial (F2) alcanzó valor predictivo independiente de progresar a fibrosis avanzada (OR 7,36; IC 1,98-31,4; P 0,004).

Tabla 7. Predictores de progresión a fibrosis avanzada en pacientes no respondedores al tratamiento antivírico

	Fibrosis avanzada	Fibrosis no significativa	P
Pacientes (n)	43	248	
Edad (años)	50,1 ± 1,6	44 ± 0,7	0,0007
Sexo H (n, %)	23 (53,5)	144 (58,1)	
Peso (Kg)	70 ± 2	72 ± 0,9	NS
IMC	25,9 ± 0,7	26 ± 0,3	NS
ARN VHC log 10/μl	2,9 ± 0,07	2,± 0,05	NS
Genotipo**			
1	35 (81,3)	158 (64,5)	
2	2 (4,6)	11 (4,5)	
3	4 (9,3)	56 (22,8)	
4	2 (4,6)	20 (8,1)	NS
AST (UI/L)	72 ± 8	55 ± 2	0,009
ALT (UI/L)	94 ± 8	92 ± 5	NS
gGT (UI/L)	82 ± 12	47 ± 3	0,0001
Albúmina (gr/100mL)	4,5 ± 0,04	4,4 ± 0,02	NS
Protrombina (%)	96 ± 1	94 ± 0,5	NS
Colesterol (mg/dL)	183 ± 6	166 ± 2	0,006
Hemoglobina (mg/dL)	106 ± 5,5	98 ± 1,6	NS
Leucocitos (x10 ⁹ cel/L)	14,9 ± 0,2	14,8 ± 0,1	NS
Plaquetas (x10 ³ cel/L)	5960 ± 228	6702 ± 126	0,02
Albúmina (gr/100mL)	191 ± 10	219 ± 3	0,003
Fibrosis inicial (Metavir)			
F0	7 (16,3)	80 (32,2)	
F1	19 (44,2)	115 (46,4)	
F2	17 (39,5)	53 (21,4)	0,02
Polimorfismo IL28B (n, %)**			
CC	6 (40)	9 (60)	
CT/TT	30 (28,3)	76 (71,7)	NS

* Metodologías de determinación del los niveles séricos ARN VHC no uniformes

** Genotipo no tipable en 1 paciente *** Disponible en 121 pacientes

En la tabla 8 aparecen las características de los pacientes que desarrollaron cirrosis durante el estudio en comparación con las que no la presentaron. En el análisis univariado la edad del paciente, los niveles de AST, ALT, GGT, plaquetas y el grado de fibrosis inicial resultaban significativamente diferentes entre ambos grupos. En el análisis multivariado, únicamente los niveles basales de plaquetas alcanzaron valor predictivo independiente (OR 108; IC 4-4682; P 0,007).

Únicamente 2 pacientes fallecieron durante el seguimiento tratándose en ambos casos de pacientes no respondedores. En ambos pacientes el exitus fue debido a un carcinoma hepatocelular. La probabilidad de supervivencia en el grupo estudiado fue del 100% a los 5, 10 y 15 años en los pacientes con RVS y del 100%, 100% y 85% en los mismos períodos en pacientes no respondedores.

Tabla 8. Predictores de progresión a cirrosis en pacientes no respondedores al tratamiento antivírico

	Cirrosis	No cirrosis	P
Pacientes (n)	21	117	
Edad (años)	51 ± 2,5	45 ± 1	0,04
Sexo H (n, %)	12 (57,1)	60 (51,3)	NS
Peso (Kg)	70 ± 3	69 ± 1	NS
IMC	26 ± 1	26,2 ± 0,4	NS
ARN VHC log 10/μl	2,99 ± 0,06	2,88 ± 0,05	NS
Genotipo**			
1	15 (71,4)	103 (88,8)	
2	1 (4,8)	2 (1,7)	
3	3 (14,3)	5 (4,3)	
4	2 (9,5)	6 (5,2)	NS
AST (UI/L)	80 ± 15	51 ± 2	0,0008
ALT (UI/L)	102 ± 13	74 ± 4	0,009
GGT (UI/L)	94 ± 21	58 ± 5	0,02
Albúmina (gr/100mL)	4,4 ± 0,06	4,5 ± 0,03	NS
Protrombina (%)	93 ± 2	95 ± 0,7	NS
Colesterol (mg/dL)	180 ± 8	177 ± 3	NS
Hemoglobina (mg/dL)	14,8 ± 0,3	14,7 ± 0,1	NS
Leucocitos (x10 ⁹ cel/L)	5437 ± 268	6722 ± 184	0,005
Plaquetas (x10 ³ cel/L)	169 ± 11	224 ± 5	0,0001
Fibrosis (METAVIR)			
F0	3 (14,3)	50 (42,7)	
F1	8 (38,1)	51 (43,6)	
F2	10 (47,6)	16 (13,7)	0,0006
Polimorfismo IL28B (n, %)**			
CC	3 (15,8)	12 (11,8)	
CT/TT	16 (84,2)	90 (88,2)	NS

* Metodologías de determinación del los niveles séricos ARN VHC no uniformes

** Genotipo no tipable en 1 paciente *** Disponible en 121 pacientes

3. Evolución de la enfermedad a muy largo plazo en pacientes con fibrosis leve-moderada no respondedores al tratamiento con interferón. Influencia del re-tratamiento.

Al finalizar el estudio 112 de los 153 pacientes que obtuvieron RVS fueron dados de alta. En el grupo de 138 pacientes sin respuesta al tratamiento, 21 no siguieron los controles programados y se perdieron durante el seguimiento. A los 160 restantes se les propuso continuar el seguimiento y realizar un re-tratamiento en los no respondedores que pudiera resultar efectivo. Al final de este nuevo período y hubieran o no sido re-tratados, se practicó una nueva elastografía para evaluar el grado final de fibrosis.

El seguimiento adicional en dicho grupo fue de 38 ± 3 meses y durante dicho período fueron re-tratados 86 de los 138 pacientes. En este grupo, 58 tenían fibrosis no significativa (F0/1), 11 fibrosis moderada (F2), 17 fibrosis avanzada (F3/F4) 14 de los cuales tenían cirrosis. El re-tratamiento se realizó con interferón pegilado y ribavirina en 29 pacientes, tratamiento triple con interferón, ribavirina y un inhibidor de la proteasa de 1ª generación en 29 pacientes y con antivirales directos sin interferón en los 28 restantes. La indicación de re-tratamiento y los fármacos utilizados se basaron en la progresiva necesidad y disponibilidad en cada caso. Tras el re-tratamiento, 75 de los 85 pacientes (87%) alcanzaron una RVS. La RVS se obtuvo en 23 de los 30 pacientes (76,7%) tratados con interferón pegilado y ribavirina, en 25 de los 29 (86,2%) que recibieron tratamiento triple y en 27 de los 28 (96,4%) tratados con antivirales directos sin interferón (P: NS). En la tabla 9 aparecen los estadíos de fibrosis en cada fase del estudio incluyendo los registrados al final del período adicional y en su caso después del re-tratamiento.

Tabla 9. Estadíos de fibrosis al inicio del estudio, al final del estudio y tras el seguimiento adicional

	Inicial (n = 291)	Fin estudio (n=291)	Seguimiento adicional (n = 160)
	107 ± 2 meses Tratamiento n = 291		38 ± 3 meses Re-tratamiento n = 86
Global			
F0	87 (30)	127 (43,6)	73 (45,6)
F1	134 (46)	81 (27,8)	32 (20)
F2	70 (24)	40 (13,7)	23 (14,4)
F3		22 (7,6)	7 (4,4)
F4		21 (7,2)	25 (15,6)
RVS			
F0	34 (22,2)	91 (62,7)	27 (65,8)
F1	75 (49)	47 (30,7)	9 (21,9)
F2	44 (28,8)	10 (6,5)	5 (12,2)
F3		0	0
F4		0	0
No RVS			
F0	53 (38,4)	31 (22,4)	46 (38,6)
F1	59 (42,7)	34 (24,6)	23 (19,3)
F2	26 (18,8)	30 (21,7)	18 (15,1)
F3		22 (15,9)	7 (5,9)
F4		21 (15,2)	25 (21)
RVS retratamiento	n=75 (86,2)		
F0		18 (24)	41 (54,7)
F1		20 (26,7)	16 (21,3)
F2		15 (20)	10 (12,6)
F3		13 (17,3)	2 (2,7)
F4		9 (12)	6 (8)

El análisis global incluyendo a todos los pacientes durante el período completo de seguimiento (inicial y adicional en los que lo realizaron) fue de $143 \pm 3,4$ meses y confirma una baja tasa de pacientes con progresión de la fibrosis (Figura 5). Por otra parte, en la figura 6, pueden observarse los cambios en los porcentajes de pacientes en cada estadio de fibrosis tras el seguimiento inicial y tras el seguimiento adicional. Creemos importante destacar que al final del seguimiento adicional un 76% de los pacientes no tenían fibrosis (F0) o la presentaban en un estadio muy inicial (F1). Por el contrario el porcentaje de pacientes en fase avanzada de la enfermedad (F3/F4) disminuyó del 14,8% al 11,6%.

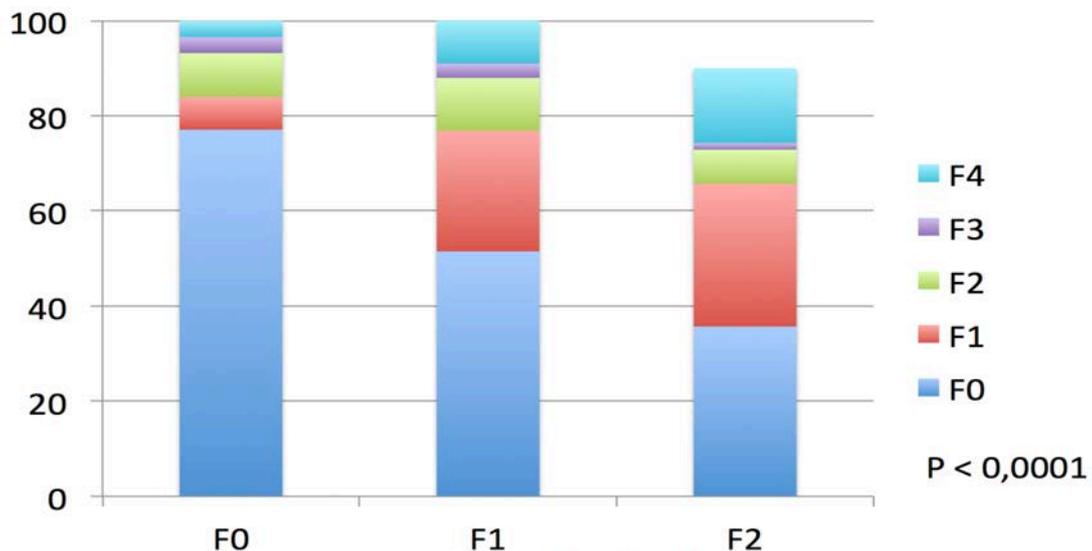


Figura 5. Progresión de la fibrosis al final del seguimiento completo (incluye el adicional) según el estadio inicial de fibrosis.

El total de pacientes que consiguieron RVS durante el período completo de seguimiento (tratamiento y retratamiento) fue de 227 (78%).

La probabilidad actuarial global de tener una fibrosis avanzada (F3/4) fue del 1,9% a los 10 años y del 27,6% a los 20 años. En los pacientes con y sin RVS a alguno de los tratamientos fue respectivamente del 0 y 10,2% (RVS) y del 7,2 y 55,7% (NR) ($P < 0,0001$) (Figura 6). La probabilidad de presentar cirrosis fue del 1,5% y del 22,6% a los 10 y 20 años, observándose también unas marcadas diferencias entre pacientes que consiguieron la RVS (0 y 5,8% a 10 y 20 años) y los no respondedores (9,8 y 50,5% en dichos períodos ($P < 0,0001$) (Figura 7).

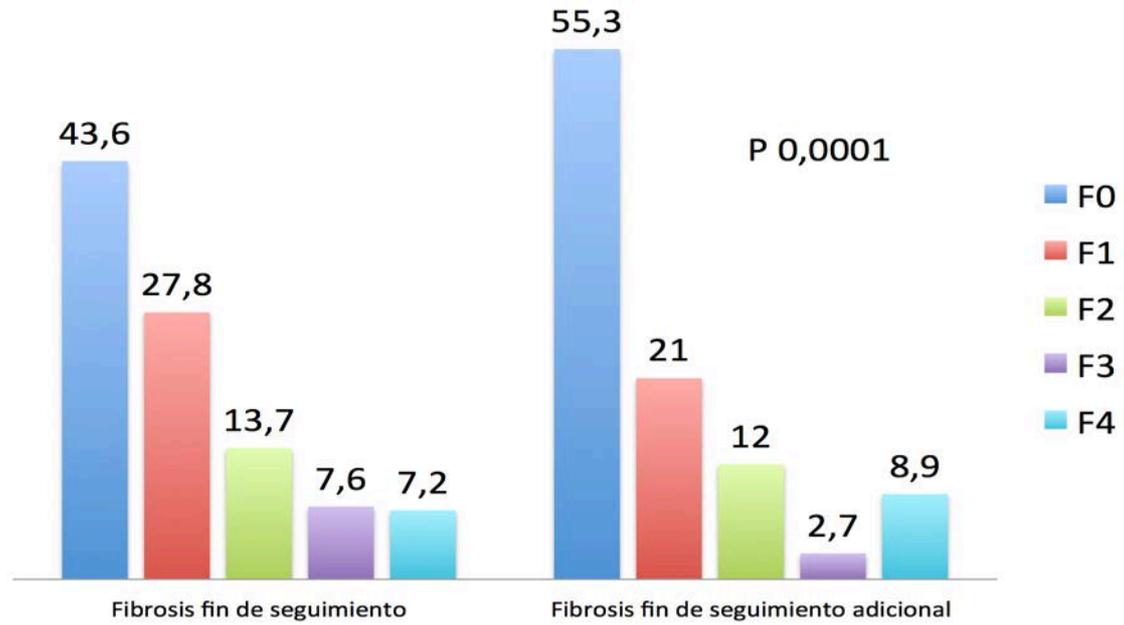


Figura 6. Porcentaje de pacientes en los diferentes grados de fibrosis al finalizar el seguimiento y tras el seguimiento adicional.

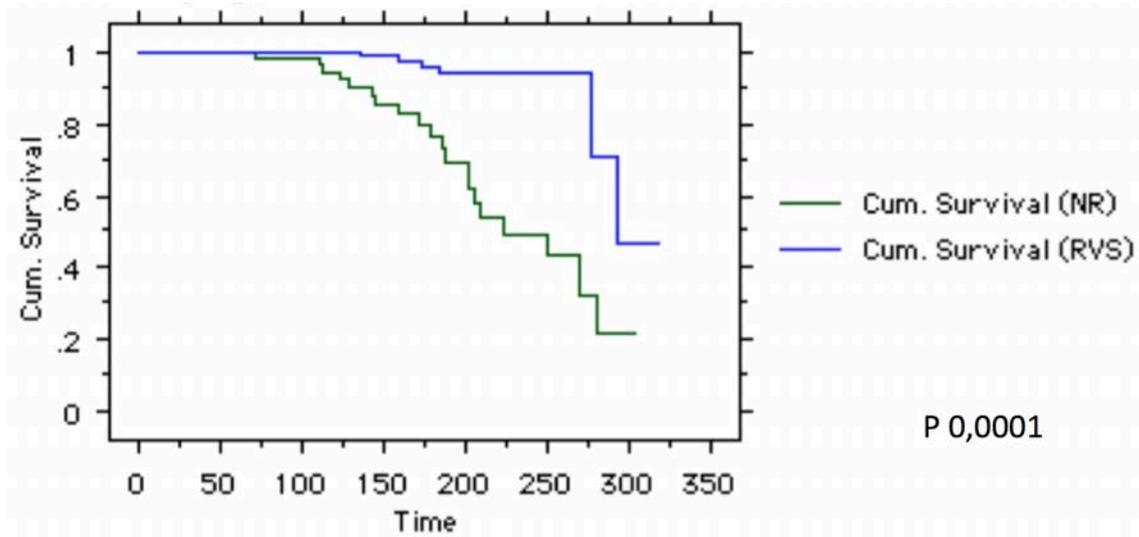


Figura 7. Probabilidad actuarial de tener cirrosis hepática al final del seguimiento global tras el tratamiento y el retratamiento en los que lo realizaron, en pacientes no respondedores (NR) y respondedores (RVS).

Únicamente 11 pacientes desarrollaron un carcinoma hepatocelular (CHC) durante el seguimiento global siendo la probabilidad actuarial del 1 y del 9,8% a los 10 y 20 años. Solo un paciente en fase de cirrosis que alcanzó RVS tras el retratamiento con antivirales directos presentó un CHC a los 6 meses de finalizarlo.

Finalmente, 11 pacientes (3,8%) fallecieron durante el estudio. En 5 casos la causa del exitus fue un carcinoma hepatocelular, en 2 una descompensación terminal de la cirrosis, y en 4 por patología no relacionada con la hepatopatía (2 neoplasias, un accidente vascular cerebral y una insuficiencia cardíaca). La probabilidad actuarial de supervivencia fue del 1 y el 13,8% a los 10 y 20 años respectivamente. En 10 de los 11 pacientes el tratamiento antivírico había resultado ineficaz (P 0,001).

Discusión

La hepatitis crónica C (HCC) es la primera causa de enfermedad hepática terminal en forma de cirrosis hepática y/o carcinoma hepatocelular, y por ello de muerte por causa hepática ^{122,123}. La evolución de la enfermedad hasta la fase terminal es debida fundamentalmente a la progresión de la fibrosis que aparece como consecuencia del proceso necro-inflamatorio que determina el VHC. Así, a medida que aumenta la fibrosis aparecen en el hígado fenómenos de regeneración que comportan una distorsión arquitectural más o menos severa que provoca la aparición de la hipertensión portal. Al mismo tiempo, la progresiva disminución de la masa de parénquima hepático condiciona a su vez la aparición de insuficiencia hepatocelular. Ambos factores constituyen los mecanismos patológicos que definen a la cirrosis hepática.

En la historia natural de la hepatitis crónica C, la progresión de la fibrosis sigue un curso no lineal que varía en un mismo individuo a lo largo del tiempo y también entre diferentes individuos ¹²⁴. Se han descrito numerosos factores capaces de influenciar en la velocidad de progresión de la fibrosis en la HCC. Entre ellos destacan la edad del individuo en el momento de la infección, el género, factores metabólicos como la presencia de obesidad y/o resistencia a la insulina, el consumo de alcohol o la coinfección por otros virus hecho especialmente confirmado en el caso del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Por todo ello, resulta fundamental en un paciente conocer en el momento del diagnóstico de una HCC en que fase de progresión de la fibrosis se encuentra el proceso. Con este fin se describieron sistemas de clasificación histológica del estadio de fibrosis, como el score de Ishak o el METAVIR entre otros ^{125,126} que además de clasificar al paciente, disminuyen la probabilidad de que se produzcan variaciones entre diferentes observadores. Múltiples estudios han confirmado el valor pronóstico del estadio de fibrosis en la historia natural de la HCC ¹²⁷.

Parece claro que los pacientes con HCC y fibrosis avanzada evolucionan rápidamente a fases terminales de la hepatopatía como la cirrosis compensada y descompensada. Sin embargo, numerosas evidencias no coinciden en establecer con exactitud el período de tiempo preciso para que los pacientes con fibrosis leve o moderada progresen a estadios avanzados de la enfermedad ¹²⁸⁻¹³³. En realidad existen pocos estudios realizados con biopsias pareadas, con revisión ciega por expertos de

las biopsias y con períodos de seguimiento suficientes para detectar diferencias en este tipo de pacientes.

El presente estudio incluye un número de pacientes suficiente (107 con biopsia pareada) y un período de seguimiento medio de 9,5 años. Además, el porcentaje de pacientes en cada estadio de fibrosis (F0 30%, F1 46% y F2 24%) permite desde un punto de vista teórico encontrar diferencias en el nivel de progresión de cada uno de dichos grupos. Finalmente, la metodología utilizada en la revisión ciega de la biopsia hepática basal por parte de un experto garantiza una correcta clasificación basal de los pacientes. Una confirmación de la correcta clasificación histológica de los estadios de fibrosis en este estudio se confirma en la tabla 3 en la que se muestran diferencias significativas en los parámetros clínicos y analíticos iniciales de los pacientes de cada grupo indicando de forma independiente una enfermedad hepática más avanzada. Así, los pacientes en estadio F2 presentan una mayor actividad inflamatoria (citólisis), un tiempo de protrombina más largo, menores niveles de colesterol y un recuento inferior de plaquetas que los F1 y éstos a su vez que los F0. Se observa también un mayor porcentaje de pacientes con genotipo 3 el cual se asocia con una progresión más rápida de la enfermedad⁷⁵. Las diferencias en la edad media de los pacientes pueden sugerir una mayor duración de la infección en las formas más avanzadas (F2) que en el resto (F0 y F1).

La tasa de respuesta al tratamiento en nuestro estudio (52,6%) es algo más alta que la que podría esperarse teniendo en cuenta que casi la tercera parte de los pacientes fueron tratados con interferón en régimen de monoterapia y los restantes con interferón convencional o pegilado asociado a ribavirina. Ello podría justificarse porque el tratamiento de los pacientes en nuestro grupo se realizaba en un programa de atención multidisciplinar que incrementaba la adherencia y determinaba una mayor eficiencia del tratamiento¹³⁴.

En el presente estudio, al final de los casi 9 años de media de seguimiento la fibrosis había progresado en 79 pacientes (27,1%) confirmándose una marcada influencia de la respuesta al tratamiento en la evolución de la enfermedad ya que la fibrosis progresó solo en 3 (1,96%) de los pacientes que alcanzaron una RVS. Este hecho

confirmado en muchos estudios previos ^{134,135} sugiere que sea mejor analizar los aspectos relacionados con la progresión de la fibrosis en el grupo de pacientes que no alcanzaron RVS tras el tratamiento.

La progresión fue mayor y más rápida en función del estadio de fibrosis inicial de manera que los que estaban en estadio F2 progresaban más que los F1 y éstos a su vez que los que no presentaban fibrosis (F0). En los no respondedores la probabilidad de progresar a fases avanzadas (F3/F4) y de cirrosis fue respectivamente del 41,1 y 21,2% a los 10 años valores nada despreciables y comparables a los descritos en anteriores estudios ¹²⁰⁻¹²². Los factores predictivos independientes fueron la existencia de un mayor grado de fibrosis inicial (F2) en la predicción de fibrosis avanzada (F3/F4) y los niveles de plaquetas en la predicción de la cirrosis. Este último dato que se repite con frecuencia en otras investigaciones parece sugerir que en determinados pacientes con fibrosis leve o moderada puedan existir trastornos del territorio vascular hepático y esplácnico propios de una hipertensión portal incipiente.

Uno de los objetivos de la presente tesis fue evaluar la eficacia de la elastografía en relación con la biopsia hepática en la valoración de la progresión de la fibrosis al final del seguimiento. Con este fin, se incluyeron 107 pacientes en los que la fibrosis final se evaluó con biopsia hepática y 184 en los que se evaluó mediante elastografía de transición. En el momento de la inclusión las características de los pacientes de ambos grupos resultaron similares (Tabla 2) dato fundamental para las comparaciones entre ambos métodos. La única diferencia observada entre ellos fue la edad de los pacientes que resultó ser menor en el grupo de pacientes evaluados con elastografía. Este hecho resulta fácilmente explicable por el período en que se incluyeron los pacientes con elastografía que era posterior a la mayoría de los que se incluyeron en el grupo de biopsia pareada. Por otra parte, la tasa de respuesta al tratamiento fue también similar en ambos grupos. Finalmente, los resultados obtenidos en la categorización del estadio final de fibrosis resultó en todos los casos semejante en los revisados con biopsia y los revisados con elastografía. Ello permite sugerir que la elastografía puede sustituir con eficacia a la biopsia hepática en la evaluación de la progresión de la fibrosis. No obstante, somos conscientes de las limitaciones de esta afirmación obtenida a partir de un análisis indirecto ya que lo lógico hubiera sido la

práctica simultánea de ambos métodos en todos los pacientes. Sin embargo, el diseño retrospectivo del estudio, la disponibilidad más tardía de la elastografía y la necesidad de un período largo de seguimiento no lo hicieron posible.

Muy recientemente, se ha descrito y confirmado que la presencia del genotipo CC del polimorfismo IL28B se asocia a una mayor progresión de la fibrosis⁸⁷. Por ello decidimos analizar dicha asociación en 243 pacientes de nuestro estudio de los que disponíamos de dicha determinación. Como aparece en la figura 1 se confirma que los pacientes con fibrosis moderada (F2) presentan con mayor frecuencia el genotipo CC de igual forma que los enfermos con fibrosis leve (F1) en relación a los que no presentan fibrosis (F0). Por el contrario, no hemos confirmado ninguna influencia del genotipo IL28B en la progresión de la fibrosis durante el seguimiento. Ello podría explicarse por la enorme influencia que tiene el propio genotipo CC en la posibilidad de respuesta al tratamiento antivírico basado en interferón y que se confirma en nuestros resultados ya que más del 80% de los pacientes que alcanzaron RVS tenían dicho polimorfismo. Por ello, es posible suponer que ambos efectos, en cierto modo opuestos, puedan interferir lo que impediría confirmar un efecto del genotipo CC en la progresión de la fibrosis.

Finalmente, en la tercera parte de la presente Tesis se analizan los resultados del seguimiento a muy largo plazo de una parte de los pacientes incluidos en el estudio (n=160) y que en la mayoría de los casos no presentaron RVS tras el primer tratamiento. Ello nos ha permitido evaluar el impacto del re-tratamiento e incrementar notablemente el período de seguimiento con el fin de realizar un análisis más exacto en este grupo de pacientes con fibrosis leve-moderada.

Ochenta y seis de los pacientes fueron retratados durante este período consiguiendo RVS en el 87% de los casos. Con los datos obtenidos hemos realizado un análisis global que comporta un período de seguimiento medio de casi 12 años. El primer dato destacable de este período es que la estrategia utilizada consiguió que el 76% de los 291 pacientes incluidos en el estudio no presentaran fibrosis o fuera leve (F0/1) al final del seguimiento. Por el contrario, la tasa de pacientes F3/F4 se redujo y alcanzó el 11,6% del total. Teniendo en cuenta que el re-tratamiento se realizó con

un régimen sub-óptimo (interferón pegilado y ribavirina ó interferón pegilado, ribavirina y un inhibidor de la proteasa de primera generación) en casi el 60% de los pacientes se puede prever que con el uso de antivirales directos en todos los casos se hubieran conseguido resultados muy superiores.

En el seguimiento global, la probabilidad actuarial de presentar tanto una fibrosis avanzada (F3/F4) como una cirrosis (F4) es baja en los primeros 10 años (1,9 y 1,5%) pero se incrementa de forma muy notable a los 20 años (27,6 y 22,6%). Sin embargo, por una parte, el impacto del tratamiento en dichas probabilidades es muy notable de forma que en los pacientes que consiguen la RVS son nulas a los 10 años (0%) y llegan al 10,2 y 5,8% a los 20 años. Ello se explica por el hecho de que el retratamiento se realizó en pacientes con fibrosis avanzada (F3/F4) en el 20% de los casos. Por otra parte, las probabilidades descritas en los pacientes sin respuesta al tratamiento que podrían ser similares a las de los pacientes no tratados son mucho más elevadas (55,7 y 50,5% a los 20 años) lo que en nuestra opinión justifica claramente el tratamiento de estos pacientes con los regímenes actuales. Finalmente, señalar que la supervivencia de este grupo de pacientes es elevada aunque la práctica totalidad de los que fallecen fueron no respondedores al tratamiento o retratamiento.

Conclusiones

1. Los pacientes sin fibrosis en la biopsia hepática inicial (F0) presentan una menor progresión de la fibrosis que la registrada en pacientes con un grado inicial F1 y F2.
2. La elastografía permite la evaluación de la progresión de la fibrosis tras el tratamiento antivírico con una eficacia similar a la de la biopsia hepática.
3. La progresión de la fibrosis es prácticamente nula en los pacientes que consiguen una RVS con el tratamiento antivírico. Por el contrario, la fibrosis progresa en más de la mitad de los pacientes sin respuesta al tratamiento.
4. En los pacientes no respondedores la probabilidad actuarial de presentar fibrosis avanzada o cirrosis es del 41 % y 21 % respectivamente a los 10 años.
5. El re-tratamiento consigue evitar la progresión a fibrosis avanzada y/o cirrosis en los pacientes que alcanzan RVS.
6. La probabilidad de cirrosis en pacientes sin respuesta al tratamiento y al re-tratamiento es del 50 % a los 20 años.

Bibliografía

1. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2017 Mar 9;380(9859):2095–128.
2. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014 Nov;61(1 Suppl):S45-57.
3. Solà R, Cruz de Castro E, Hombrados M, Planas R, Coll S, Jardí R, et al. Prevalencia de las hepatitis B y C en diversas comarcas de Cataluña: estudio transversal. *Med Clin (Barc)*. 2002;119(3):90–5.
4. Sacristán B, Gastañares MI, Elena A, Sacristán M, Barcenilla J, García JC, et al. Seroepidemiologic study of hepatitis C virus infection in a general population from the region of La Rioja, Spain. *Med Clin (Barc)*. 1996;107(9):331–5.
5. Riestra, Sabino; Fernández, Eloy; Leiva, Pilar; García, Sara; Ocio, Guillermo; Rodrigo L. Prevalence of hepatitis C virus infection in the general population of northern Spain. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2001;13:477–81.
6. Garcia-Fulgueiras A, Tormo MJ, Rodriguez T, Perez-Flores D, Chirlaque D NC. Prevalence of hepatitis B and C markers in the south-east of Spain: an unlinked community-based serosurvey of 2,203 adults. *Scand J Infect Dis*. 1996;28:17–20.
7. Chimeno MM, Chocarro A, Brezmes P, Ochoa C PJ. Seroprevalence of hepatitis C virus in the general population. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2002;20:64–7.
8. López-Izquierdo R, Udaondo MA, Zarzosa P, García-Ramón E, Garcinuño S, Bratos MA, Orduña A, Rodríguez-Torres A AA. Seroprevalence of viral hepatitis in a representative general population of an urban public health area in Castilla y León (Spain). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2007;25:317–23.
9. Domínguez A, Bruguera M, Vidal J, Plans P SL. Community-based seroepidemiological survey of HCV infection in Catalonia, Spain. *J Med Virol*. 2001;171:242–8.

10. Williams IT, Bell BP, Kuhnert W, Alter MJ. Incidence and Transmission Patterns of Acute Hepatitis C in the United States, 1982-2006. *Arch Intern Med.* 2011;171(3):242.
11. Enea Spada, Alfonso Mele, Andrea Mariano, Ornella Zuccaro and MET on behalf, Group of S collaborating. Risk Factors for and Incidence of Acute Hepatitis C After the Achievement of Blood Supply Safety in Italy: Results From the National Surveillance System. *J Med Virol.* 2013;85:433–40.
12. Klevens RM, Hu DJ, Jiles R, Holmberg SD. Evolving epidemiology of hepatitis C virus in the United States. *Clin Infect Dis.* 2012;55 Suppl 1(Suppl 1):3–9.
13. Bruguera M FX. Hepatitis C en España. 2006;113–7.
14. Ros Cervera G, Alvarez Fernández M, Moreno Galarza G MMA. Prevalence of viral hepatitis in a Pakistani population of immigrant adults attended to in a health center. *Med Clin (Barc).* 2005;125:317.
15. S. Rodríguez-Tajes, Y. Dacal, C. Collazos, M.C. Frías D, M.J. Vidal Benede, M. Janéd, A. Domínguez, d, X. Forns B, y S. Lens por Hepv. Estudio de prevalencia de infección por los virus de la hepatitis B y C en Cataluña. *Gastroenterol Hepatol.* 2017;40:13.
16. A. Cuadrado, C. Perelló, S. Llerena, M. Gómez MDE, L. Rodríguezb, A. Estébanez, B. Gámezb, V. García LP, M.T. Arias, J. Cabezas, Serra JLC y JCMA. Estudio de la prevalencia de la hepatitis C en la población española. ESTUDIO PREVHEP/ COHORTE ETHON. *Gastroenterol Hepatol.* 2017;40:1–2.
17. HJ, Alter SL. Recovery, persistence, and sequelae in hepatitis C virus infection: a perspective on long-term outcome. *Semin Liver Dis.* 2000;20:17–35.
18. Kato N. Molecular virology of hepatitis C virus. *Acta Med Okayama* 2001; 55:133-159.
19. Simmonds P. The origin and evolution of hepatitis viruses in humans. *Journal of General Virology* 2001; 82: 693-712.
20. Zein NN. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. *Clin Microbiol Rev.* 2000 Apr;13(2):223-35.

21. Moreno Planas JM, Fernández Ruiz M, Portero Azorin F, Boullosa Graña E, Rubio González E, Martín Garcia S, et al. Prevalence of hepatitis C virus genotypes in a Spanish liver transplant unit. *Transpl Proc.* 2005;37:1486–7.
22. Arenas M, Muñoz C, Sánchez-Payá J, Jover R, Egea JJ, Gil MT, et al. Distribución de los genotipos del virus C en la población de hemodiálisis de la provincia de Alicante. *Nefrología.* 2001;21(6):581–7.
23. Touceda S, Pereira M AA. Prevalence of hepatitis C virus genotypes in the area of El Ferrol (La Coruña, Spain). *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2002;20:200–4.
24. Serra MA, Rodríguez F, del Olmo JA, Escudero A RJ. Influence of age and date of infection on distribution of hepatitis C virus genotypes and fibrosis stage. *J Viral Hepat.* 2003;10:183–8.
25. Rodríguez J, García J, Moya I, Ayelo a, Vázquez N, Sillero C, et al. Variabilidad genética del virus de la hepatitis C en el área de salud de Elche. Correlación entre el antígeno del core y la carga viral. *Gastroenterol Hepatol [Internet].* 2003;26(7):407–10.
26. Sarwar MT, Kausar H, Ijaz B, Ahmad W, Ansar M, Sumrin A, Ashfaq UA, Asad S, Gull S, Shahid I, Hassan S. 1bNS4A protein as a marker of HCV history suggests that different HCV genotypes originally evolved from genotype 1b. *Virology Journal* 2011;8:317.
27. Mosley JW, Operskalski EA, Tobler LH, Andrews WW, Phelps B, Dockter J, Giachetti C BM. Viral and host factors in early hepatitis C virus infection. *Hepatology.* 2005;42:86–92.
28. Hoofnagle JH. Hepatitis C: the clinical spectrum of disease. *Hepatology.* 1997;26(3 Suppl 1):15S–20S.
29. Farci P, Alter HJ, Wong D, Miller RH, Shih JW, Jett B PR. A long-term study of hepatitis C virus replication in non-A, non-B hepatitis. *New Engl J Med.* 1991;325:98–104.
30. Bertolotti A, Ferrari C. Kinetics of the immune response during HBV and HCV infection. *Hepatology.* 2003;38(1):4–13.

31. Deterding K, Wiegand J, Grüner N, Hahn A, Jäckel E, Jung MC, Buggisch P, Galle P, Berg T, Hinrichsen H, Potthoff A, Zeuzem S, Cornberg M, Manns M WH. The German Hep-Net acute hepatitis C cohort: impact of viral and host factors on the initial presentation of acute hepatitis C virus infection. *Z Gastroenterol.* 2009;47:531–40.
32. Cox AL, Netski DM, Mosbrugger T, Sherman SG, Strathdee S, Ompad D, et al. Prospective Evaluation of Community-Acquired Acute-Phase Hepatitis C Virus Infection. 2005;21231(September 2004):951–8.
33. Orland JR, Wright TL, Cooper S. Acute hepatitis C. *Hepatology.* 2001;33(2):321–7.
34. Loomba R, Rivera MM, McBurney R, Park Y, Haynes-Williams V, Rehermann B, et al. The natural history of acute hepatitis C: Clinical presentation, laboratory findings and treatment outcomes. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011;33(5):559–65.
35. Thomas DL SL. Natural history of hepatitis C. *Clin Liver Dis.* 2005;9:383–98.
36. Seeff LB HJ. Appendix: The National Institutes of Health Consensus Development Conference Management of Hepatitis C 2002. *Clin Liver Dis.* 2003;7:261–87.
37. Pape GR, Gerlach TJ, Diepolder HM, Gruner N, Jung MC, Santantonio T. Role of the specific T-cell response for clearance and control of hepatitis C virus. *J Viral Hepat.* 1999;6(SUPPL. 1):36–40.
38. Corey KE, Ross AS, Wurcel A, Schulze Zur Wiesch J, Kim AY, Lauer GM, et al. Outcomes and treatment of acute hepatitis C virus infection in a United States population. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2006;4(10):1278–82.
39. Wang CC, Krantz E, Klarquist J, Krows M, McBride L, Scott EP, et al. Acute hepatitis C in a contemporary US cohort: modes of acquisition and factors influencing viral clearance. *J Infect Dis.* 2007;196(10):1474–82.
40. Thomas DL, Astemborski J, Rai RM, Anania FA, Schaeffer M, Galai N, et al. The natural history of hepatitis C virus infection. *Am Med Assoc.* 2000;284(4):450–6.

41. Micallef JM, Kaldor JM, Dore GJ. Spontaneous viral clearance following acute hepatitis C infection: A systematic review of longitudinal studies. *J Viral Hepat.* 2006;13(1):34–41.
42. Tillmann HL, Thompson AJ, Patel K, Wiese M, Tenckhoff H, Nischalke HD, et al. A polymorphism near IL28B is associated with spontaneous clearance of acute hepatitis C virus and jaundice. *Gastroenterology.* 2010;139(5):1586–1592.
43. David L. Thomas, Chloe L. Thio, Maureen P. Martin, Ying Qi, Dongliang Ge, Colm O’hUigin, Judith Kidd, Kenneth Kidd, Salim I. Khakoo, Graeme Alexander, James J. Goedert, Gregory D. Kirk, Sharyne M. Donfield, Hugo R. Rosen LHT, Michael P. Busch, John G. McHutchison, David B. Goldstein and MC. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature.* 2009;461:798–801.
44. Jason Grebely, Kathy Petoumenos, Margaret Hellard, Gail Matthews, Vijayaprakash Suppiah, Tanya Applegate, Barbara Yeung, Phillipa Marks, William Rawlinson, Andrew R. Lloyd, David Booth, John M. Kaldor, Jacob George, and Gregory J. Dore for the ASG. Potential role for IL28B genotype in treatment decision-making in recent hepatitis C virus infection. *Hepatology.* 2010;52(4):1216–24.
45. Aberle JH, Formann E, Steindl-Munda P, Weseslindtner L, Gurguta C, Perstinger G, Grilnberger E, Laferl H, Dienes HP, Popow-Kraupp T, Ferenci P HH. Prospective study of viral clearance and CD4(+) T-cell response in acute hepatitis C primary infection and reinfection. *J Clin Virol.* 2006;36:24–31.
46. Sherker A, Petoumenos K, Zang G, Shaw I, Shoukry NH, Lloyd AR, et al. Plasma interferon-gamma-inducible protein-10 (IP-10) levels during acute hepatitis C virus infection. *Hepatology.* 2013;57(6):2124–34.
47. Hofer H, Watkins-Riedel T, Janata O, Penner E, Holzmann H, Steindl-Munda P, Gangl A FP. Spontaneous viral clearance in patients with acute hepatitis C can be predicted by repeated measurements of serum viral load. *Hepatology.* 2003; 37: 60–4.

48. Teuber G, Schäfer A, Rimpel J, Paul K, Keicher C, Scheurlen M, et al. Deterioration of health-related quality of life and fatigue in patients with chronic hepatitis C: Association with demographic factors, inflammatory activity, and degree of fibrosis. *J Hepatol.* 2008;49(6):923–9.
49. Jacobson IM, Cacoub P, Dal Maso L, Harrison SA, Younossi ZM. Manifestations of Chronic Hepatitis C Virus Infection Beyond the Liver. *Clin Gastroenterol Hepatol [Internet].* 2010;8(12):1017–29.
50. Freeman Aj, Dore GJ, Law MG et al, Estimating progression to cirrhosis in chronic hepatitis C virus infection., *Hepatology* 2001;34:809-816.
51. Wiese M, Berr F, Lafrenz M, Porst H, Oesen U. Low frequency of cirrhosis in a hepatitis C (genotype 1b) single-source outbreak in Germany: a 20 year multi-center study. *HEPATOLOGY* 2000;32:91-96.
52. Tong MJ, el-Farra NS, Reikes AR, Co RL. Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C. *N Engl J Med* 1995;332:1463-1466.
53. 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.
54. 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.
55. Hu KQ, Tong MJ. The long-term outcomes of patients with compensated hepatitis C virus-related cirrhosis and history of parenteral exposure in the United States. *Hepatology.* 1999;29(4):1311–6.
56. Seeff LB, Hoofnagle JH. National Institutes of Health Consensus Development Conference statement: Management of Hepatitis C: 2002 - June 10-12, 2002. *Hepatology.* 2002;36(5 I):ajhep03600s3.
57. Saunders JB, Walters JR, Davies AP, Paton A. A 20-year prospective study of cirrhosis. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1981 Jan 24;282(6260):263-6.

58. Ginés P, Quintero E, Arroyo V, Terés J, Bruguera M, Rimola A, Caballería J, Rodés J, Rozman C. Compensated cirrhosis: natural history and prognostic factors. *Hepatology*. 1987 Jan-Feb;7(1):122-8.
59. D'Amico G. Natural history of compensated cirrhosis and varices. In: Boyer TD, Groszmann RJ, editors. *Complications of cirrhosis: pathogenesis, consequences and therapy*. American Association for the Study of Liver Diseases; 2001. p. 118–123 .
60. D'Amico G, Morabito A, Pagliaro L, Marubini E. Survival and prognostic indicators in compensated and decompensated cirrhosis. *Dig Dis Sci*. 1986 May;31(5):468-75.
61. D'Amico G, Pasta L, Madonia S, Tarantino G, Mancuso A, Malizia G, et al. The incidence of esophageal varices in cirrhosis. *Gastroenterology* 2001;120:A2.
62. Rumi MG, De Filippi F, Donato MF, Del Ninno E, Colombo M. Progressive hepatic fibrosis in healthy carriers of hepatitis C virus with a transaminase breakthrough. *J Viral Hepat*. 2002;9(1):71–4.
63. Ghany MG, Kleiner DE, Alter H et al. Progression of fibrosis in chronic hepatitis C, *Gastroenterology* 2003;124:97-104.
64. Missiha SB, Ostrowski M, Heathcote EJ. Disease progression in chronic hepatitis C: modifiable and nonmodifiable factors. *Gastroenterology* 2008;134:1699-1714.
65. Diwakaran HH, Befeler AS, Britton RS et al. Accelerated hepatic fibrosis in patients with combined hereditary hemochromatosis and chronic hepatitis C infection. *J Hepatol* 2002;36: 687-691.
66. Ardalan FA; Osquel MR, Tossi MN et al. Synergic effect of chronic hepatitis C infection and B thalassemia major with marked hepatic iron overload on liver fibrosis: a retrospective cross-sectional study. *BMC Gastroenterol* 2004;4:17.
67. Minola E, Prati D, Suter.F, Maggiolo F, Caprioli F, Sonzogni A, et al. Age at infection affects the long-term outcome of transfusion-associated chronic hepatitis C. *Blood*. 2002;99(12):4588–91.

68. Fernández-Rodríguez CM, Gutiérrez ML, Serrano PL, Lledó JL, Santander C, Fernández TP, Tomás E, Cacho G, Nevado M CM. Factors influencing the rate of fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci.* 2004;49:1971–6.
69. Zavaglia C, Silini E, Mangia A, Airoldi A, Piazzolla V, Vangeli M, et al. Prognostic factors of hepatic decompensation and hepatocellular carcinoma in patients with transfusion-acquired HCV infection. *Liver Int.* 2014;34(7):308–16.
70. Delarocque-Astagneau E, Roudot-Thoraval F, Campèse C, Desenclos JC, Bronowicki JP, Couzigou P, et al. Past excessive alcohol consumption: A major determinant of severe liver disease among newly referred hepatitis C virus infected patients in hepatology reference centers, France, 2001. *Ann Epidemiol.* 2005;15(8):551–7.
71. Wiley TE, McCarthy M, Breidi L, Layden TJ. Impact of alcohol on the histological and clinical progression of hepatitis C infection. *Hepatology.* 1998;28(3):805–9.
72. Pessione F, Ramond MJ, Njapoum C, Duchatelle V, Degott C, Erlinger S, et al. Cigarette smoking and hepatic lesions in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2001;34(1):121–5.
73. Dev A, Patel K, Conrad A, Blatt LM, McHutchison JG. Relationship of Smoking and Fibrosis in Patients With Chronic Hepatitis C. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2006;4(6):797–801.
74. Raimondi S, Bruno S, Mondelli MU, Maisonneuve P. Hepatitis C virus genotype 1b as a risk factor for hepatocellular carcinoma development: A meta-analysis. *J Hepatol.* 2009;50(6):1142–54.
75. Bochud PY, Cai T, Overbeck K et al. Genotype 3 is associated with accelerated fibrosis progression in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2009;51:655–66.
76. Rubbia-Brandt L, Quadri R, Abid K, Giostra E, Malé PJ, Mentha G, et al. Hepatocyte steatosis is a cytopathic effect of hepatitis C virus genotype 3. *J Hepatol.* 2000;33(1):106–15.

77. Soto B, Sánchez-Quijano A, Rodrigo L, Olmo JA del, García-Bengoechea M, Hernández-Quero J, et al. Human immunodeficiency virus infection modified the natural history of chronic parenterally-acquired hepatitis C with an unusually rapid progression to cirrhosis. *J Hepatol*. 1997;26(1):1–5.
78. Pontisso P, Gerotto M, Benvegnù L, Chemello L AA. Coinfection by hepatitis B virus and hepatitis C virus. *Antivir Ther*. 1998;3:137–42.
79. Bataller R, Brenner D. Liver fibrosis. *J Clin Invest*. 2005;115(2):209–18.
80. Lee YA, Wallace MC, Friedman SL. HHS Public Access. 2015;64(5):830–41.
81. Pinzani M, Macias-Barragan J. Update on the pathophysiology of liver fibrosis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2010;4(4):459–72.
82. Wynn TA. Common and unique mechanisms regulate fibrosis in various fibroproliferative diseases. *J Clin Invest*. 2007;117(3):524–9.
83. Pellicoro A, Ramachandran P, Iredale JP, Fallowfield JA. Liver fibrosis and repair: immune regulation of wound healing in a solid organ. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(3):181–94.
84. Tacke F. Functional role of intrahepatic monocyte subsets for the progression of liver inflammation and liver fibrosis in vivo. *Fibrogenesis Tissue Repair*. 2012;5(Suppl 1):S27.
85. Wehr A, Baeck C, Ulmer F, Gassler N, Hittatiya K, Luedde T, et al. Pharmacological inhibition of the chemokine CXCL16 diminishes liver macrophage infiltration and steatohepatitis in chronic hepatic injury. *PLoS One*. 2014;9(11).
86. Poynard T, Ratziu V, Charlotte F, Goodman Z, McHutchison J, Albrecht J. Rates and risk factors of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis c. *J Hepatol*. 2001 May;34(5):730-9.
87. Eslam M, McLeod D, Kelaeng KS, Mangia A, Berg T, Thabet K, Irving WL, Dore GJ, Sheridan D, Grønbaek H, Abate ML, Hartmann R, Bugianesi E, Spengler U, Rojas A, Booth DR, Weltman M, Mollison L, Cheng W, Riordan S, Mahajan H, Fischer J, Nattermann J, Douglas MW, Liddle C, Powell E, Romero-Gomez M, George J; International Liver Disease Genetics Consortium (ILDGC). IFN- λ 3, not IFN- λ 4, likely mediates IFNL3-IFNL4 haplotype-

- dependent hepatic inflammation and fibrosis. *Nat Genet.* 2017 May;49(5):795-800.
88. Donato F, Tagger A, Gelatti U, Parrinello G, Boffetta P, Albertini A, Decarli A, Trevisi P, Ribero ML, Martelli C, Porru S, Nardi G. Alcohol and hepatocellular carcinoma: the effect of lifetime intake and hepatitis virus infections in men and women. *Am J Epidemiol.* 2002 Feb 15;155(4):323-31.
89. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pylsopoulos et al. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infections. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2614-2618.
90. Rousselet MC, Michalak S, Dupré F, Croué A, Bedossa P, Saint-André JP et al. Sources of variability in histological scoring of chronic viral hepatitis. *Hepatology* 2005;41:257-264.
91. Colloredo G, Guido M, Sonzogni A, Leandro G. Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease. *J Hepatol* 2003;39:239-244.
92. Bedossa P, Dargère D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;38:1449-1457.
93. Bravo AA, Sheth SG, Chopra S, Liver biopsy. *N Engl J Med* 2001;344:7:495-500.
94. Hultcrantz R, Gabrielsson N. Patients with persistent elevation of aminotransferases: investigation with ultrasonography, radionuclide imaging and liver biopsy. *J Intern Med* 1993;233:7-1
95. Friedman SL. Liver fibrosis-from bench to bedside. *J Hepatol* 2003; S8(Suppl): S38 S53.
96. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;38:518-526.
97. Forns X, Ampurdanés S, Llovet JM, Aponte J, Quintó L, Martínez-Bauer E et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology* 2002;36:986-992.
98. Patel K, Gordon SC, Jacobson I, Hezode C, Oh E, Smith KM et al. Evaluation of a panel of non-invasive serum markers to differentiate mild from moderate-to-advanced liver fibrosis in hepatitis C patients. *J Hepatol* 224;41:935-942.

99. Imbert-Bismut F, Ratzin V, Laurence Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y et al. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet* 2001;357:1069-1075.
100. Thabut D, Simon M, Myers RP, Messous D Thibault V, Imbert-Bismut F et al. Noninvasive prediction of fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 37; 1220
101. Rossi E, Adams L, Prins A et al. Validation of Fibro Test biochemical markers score in assessing liver fibrosis in hepatitis C patients. *Clin Chem* 2003;49:450-454.
102. Rosenberg WMC, 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;127;1704.1713.
103. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. European Association for Study of Liver; Asociación Latinoamericana para el Estudio del Hígado. *J Hepatol.* 2015 Jul; 63(1):237-64.
104. Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A, Christidis C, Mal F, Kazemi F et al. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005;41:48-54.
105. 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;128:343-350.
106. Castera L, Forns X, Alberti A. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. *J Hepatol.* 2008 May;48(5):835-47.
107. Boursier J, Zarski JP, de Ledinghen V, Rousselet MC, Sturm N, Lebaill B, Fouchard-Hubert I, Gallois Y, Oberti F, Bertrais S, Calès P; Multicentric Group from ANRS/HC/EP23 FIBROSTAR Studies. Determination of reliability criteria for liver stiffness evaluation by transient elastography. *Hepatology.* 2013 Ma;57(3):1182-91.
108. Puigvehí M, Broquetas T, Coll S, Garcia-Retortillo M, Cañete N, Fernández R, Gimeno J, Sanchez J, Bory F, Pedro-Botet J, Solà R, Carrión JA. Impact of Anthropometric Features on the Applicability and Accuracy of FibroScan® (M

- and XL) in Overweight/Obese Patients. *J Gastroenterol Hepatol*. 2017 Feb 15.
109. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Shiffman ML, Lee WM, Rustgi VK, Goodman ZD, Ling MH, Cort S, Albrecht JK. 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):1485-9
110. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, Niederau C, Minuk GS, Ideo G, Bain V, Heathcote J, Zeuzem S, Trepo C, Albrecht J. 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.
111. 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 randomised trial. *Lancet*. 2001 Sep 22;358(9286):958-65.
112. Poordad F, McCone J, Bacon BR, Bruno S, Manns MP, Sulkowski MS, Jacobson IM, Reddy KR, Goodman ZD, Boparai N, DiNubile MJ, Sniukiene V, Brass CA, Albrecht JK, Bronowicki JP. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011; 364: 11951206.
113. Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, Di Bisceglie AM, Reddy KR, Bzowej NH, Marcellin P, Muir AJ, Ferenci P, Flisiak R, George J, Rizzetto M, Shouval D, Sola R, Terg RA, Yoshida EM, Adda N, Bengtsson L, Sankoh AJ, Kieffer TL, George S, Kauffman RS, Zeuzem S. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2011; 364: 24052416
114. Ryder SD, Irving WL, Jones DA, Neal KR, Underwood JC; Trent Hepatitis C Study Group. Progression of hepatic fibrosis in patients with hepatitis C: a prospective repeat liver biopsy study. *Gut*. 2004 Mar;53(3):451-5.
115. Bruno S, Di Marco V, Iavarone M, Roffi L, Crosignani A, Calvaruso V, Aghemo A, Cabibbo G, Viganò M, Boccaccio V, Craxí A, Colombo M, Maisonneuve P. Survival of patients with HCV cirrhosis and sustained virologic response is similar to the general population. *J Hepatol*. 2016 Jun;64(6):1217-23.
116. Koh C, Heller T, Haynes-Williams V, Hara K, Zhao X, Feld JJ, Kleiner DE,

- Rotman Y, Ghany MG, Liang TJ, Hoofnagle JH. Long-term outcome of chronic hepatitis C after sustained virological response to interferon-based therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013 May;37(9):887-94.
117. 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.
118. van der Meer AJ, Veldt BJ, Feld JJ, Wedemeyer H, Dufour JF, Lammert F, Duarte-Rojo A, Heathcote EJ, Manns MP, Kuske L, Zeuzem S, Hofmann WP, de Knegt RJ, Hansen BE, Janssen HL. 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.
119. van der Meer AJ, Feld JJ, Hofer H, Almasio PL, Calvaruso V, Fernández-Rodríguez MD, Aleman S, Ganne-Carrié N, D'Ambrosio R, Pol S, Trapero-Marugan M, Maan R, Moreno-Otero R, Mallet V, Hultcrantz R, Weiland O, Rutter K, Di Marco V, Alonso S, Bruno S, Colombo M, de Knegt RJ, Veldt BJ, Hansen BE, Janssen HL. Risk of cirrhosis-related complications in patients with advanced fibrosis following hepatitis C virus eradication. *J Hepatol.* 2017 Mar;66(3):485-493.
120. Alonso S, Bruno S, Colombo M, de Knegt RJ, Veldt BJ, Hansen BE, Janssen HL. Risk of cirrhosis-related complications in patients with advanced fibrosis following hepatitis C virus eradication. *J Hepatol.* 2017 Mar;66(3):485-493.
121. Forns X, Ampurdanès S, Sanchez-Tapias JM, Guilera M, Sans M, Sánchez-Fueyo A, Quintó L, Joya P, Bruguera M, Rodés J. Long-term follow-up of chronic hepatitis C in patients diagnosed at a tertiary-care center. *J Hepatol.* 2001 Aug;35(2):265-71.
122. 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;57:1333-1342.
123. 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;48:418-431.

124. 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 Sep-Oct;1(5):431-5.
125. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology*. 1996 Aug;24(2):289-93.
126. Everhart JE, Wright EC, Goodman ZD, Dienstag JL, Hoefs JC, Kleiner DE, et al. Prognostic value of Ishak fibrosis stage: findings from the hepatitis C antiviral long-term treatment against cirrhosis trial. *Hepatology* 2010;51:585-594.
127. Marcellin P, Asselah T, Boyer N. Fibrosis and disease progression in hepatitis C. *Hepatology*. 2002 Nov;36(5 Suppl 1):S47-56.
128. Ghany MG, Kleiner DE, Alter H, Doo E, Khokar F, Promrat K, Herion D, Park Y, Liang TJ, Hoofnagle JH. Progression of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2003 Jan;124(1):97-104.
129. Hui CK, Belaye T, Montegrando K, Wright TL. A comparison in the progression of liver fibrosis in chronic hepatitis C between persistently normal and elevated transaminase. *J Hepatol*. 2003 Apr;38(4):511-7.
130. Ryder SD, Irving WL, Jones DA, Neal KR, Underwood JC; Trent Hepatitis C Study Group. Progression of hepatic fibrosis in patients with hepatitis C: a prospective repeat liver biopsy study. *Gut*. 2004 Mar;53(3):451-5.
131. Boccato S, Pistis R, Noventa F, Guido M, Benvegnù L, Alberti A. Fibrosis progression in initially mild chronic hepatitis C. *J Viral Hepat*. 2006 May;13(5):297-302
132. Alberti A, Benvegnù L, Boccato S, Ferrari A, Sebastiani G. Natural history of initially mild chronic hepatitis C. *Dig Liver Dis*. 2004 Oct;36(10):646-54.
133. Carrión JA, Gonzalez-Colominas E, García-Retortillo M, Cañete N, Cirera I, Coll S, Giménez MD, Márquez C, Martín-Escudero V, Castellví P, Navinés R, Castaño JR, Galeras JA, Salas E, Bory F, Martín-Santos R, Solà R. Cost-effectiveness analysis of a multidisciplinary support program in chronic hepatitis C evaluating pegylated interferon alfa-2a and ribavirin. *J Hepatology* 2013; 59: 926-33.

134. 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;39:333-342.
135. 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; 105: 2164-2173