

# Interferón alfa y fibrosis hepática en pacientes con daño crónico por el virus de hepatitis C

Dra. María Sarai Gonzalez-Huezo,\* Dr. Juan Fernando Gallegos-Orozco\*\*

\* Departamento de Gastroenterología, Centro Médico ISSEMYM. Metepec, Estado de México. \*\* Departamento de Gastroenterología, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, México, D.F.

Correspondencia: Dra. María Sarai Gonzalez-Huezo, Depto. de Gastroenterología, Centro Médico ISSEMYM. Av. Baja Velocidad 284, Col. San Jerónimo Chicahualco, Metepec, Estado de México. Correo electrónico: saraigh69@yahoo.com

Recibido para publicación: 10 de julio de 2003.

Aceptado para publicación: 16 de agosto de 2003.

**RESUMEN.** En la presente revisión se analizan los hallazgos publicados a la fecha con respecto al efecto del interferón alfa sobre la fibrosis hepática en pacientes con daño crónico secundario a infección por virus de hepatitis C. Analizamos primordialmente la evidencia en las modificaciones en el grado de fibrosis en pacientes que no obtuvieron respuesta virológica sostenida, así como en pacientes con cirrosis que fueron tratados con el fármaco. El análisis incluye resultados de estudios realizados in vitro (marcadores indirectos de fibrosis, activación de células estelares, estrés oxidativo) en respuesta al tratamiento en cultivo de líneas celulares hepáticas. En el área clínica existe evidencia clara de una respuesta histológica en presencia de erradicación viral, por lo que las modificaciones en el grado de fibrosis en los pacientes con viremia persistente y pacientes cirróticos son uno de los objetivos de esta revisión. La información disponible relacionada con estos pacientes (no respondedores y cirróticos) fue analizada con datos objetivos (grado de fibrosis pre y postratamiento) así como su evolución a lo largo del tiempo; tomando en cuenta que la morbimortalidad asociada a esta enfermedad está en relación con las complicaciones de la cirrosis hepática y no con la viremia persistente. Por último, se sugiere que el proceso de fibrosis/cirrosis es un proceso dinámico y que existe evidencia de que el uso del interferón en estos pacientes puede interferir o retardar el proceso fibrogénico y resta esperar resultados de estudios que se llevan a cabo en este momento con el fin de comprobar estas impresiones.

**Palabras clave:** hepatitis C, fibrosis, cirrosis, interferón, efecto antifibrogénico.

**SUMMARY.** The present review focuses on the published information published regarding the effects of interferon alpha therapy on liver fibrosis in patients with chronic liver damage secondary to hepatitis C infection. Data reviewed included results of the in vitro effects of interferon on hepatic cell line cultures with regards to indirect markers of fibrosis, activation of hepatic stellate cells and oxidative stress response. In the clinical arena, there is current clear evidence of a favorable histological outcome in patients with sustained viral response to interferon therapy. For this reason, the current review focuses more on the histological outcomes regarding liver fibrosis in patients who have not attained viral response to therapy (non-responders) or who already have biopsy defined cirrhosis. Data in these patients were analyzed according to the results of objective testing of fibrosis through the assessment of liver biopsy and its change during time, specially because the morbidity and mortality of this disease is directly related to the complications of liver cirrhosis and not necessarily to the persistence of the hepatitis C virus. Lastly, it is concluded that the process of liver fibrosis/cirrhosis is a dynamic one and that there is some evidence to support the usefulness of interferon alpha therapy as a means to halt or retard the progression of hepatic fibrosis. The result of current clinical trials in which interferon therapy is being used to modify the progression of fibrosis in non-responders or cirrhotic patients is eagerly awaited.

**Key words:** Hepatitis C, fibrosis, cirrhosis, interferon, antifibrogenic.

## INTRODUCCIÓN

La hepatitis crónica C se ha convertido en un grave problema de salud tanto en México como a nivel mundial. En nuestro país se estima que 1.2% de la población adulta cuenta con anticuerpos contra el virus de la hepatitis C (VHC).<sup>1</sup> En Estados Unidos y Europa la prevalencia es similar y en la actualidad representa la causa principal de trasplante hepático como manifestación de enfermedad hepática terminal,<sup>2</sup> además se ha demostrado un incremento reciente en la incidencia de carcinoma hepatocelular asociada a la presencia del VHC.<sup>3</sup>

Veinte por ciento de los pacientes con hepatitis crónica C desarrollarán cirrosis a 20 años de adquirir la infección. Dado el curso tan lento de la enfermedad, el número

de casos de cirrosis y sus complicaciones se ha elevado y se estima que seguirá elevándose las siguientes dos décadas.<sup>4</sup>

En este momento, el único tratamiento efectivo incluye interferón alfa más ribavirina. Sin embargo, aún con el mejor esquema disponible en este momento (interferón alfa pegilado más ribavirina a dosis optimizada), 40 a 60% de los pacientes no obtienen respuesta viral satisfactoria con el tratamiento. Debido a lo anterior, es imprescindible diseñar estrategias de manejo con el objetivo de modificar la historia natural de la enfermedad aun en ausencia de erradicación viral, pues la morbimortalidad asociada a la enfermedad es consecuencia directa de la fibrosis avanzada (cirrosis hepática).

Múltiples estudios sugieren la posibilidad de que el interferón alfa puede jugar un papel benéfico sobre la fibrogénesis hepática y su progresión en pacientes con hepatitis crónica viral C, por lo que la presente revisión pretende analizar la información disponible en la literatura, partiendo de estudios básicos hasta ensayos clínicos controlados.

### EVIDENCIA EXPERIMENTAL

El mecanismo de acción del interferón en la hepatitis C incluye un efecto antiviral directo, antiproliferativo y modulador de la respuesta inflamatoria por parte del huésped.<sup>5</sup> Independientemente de su efecto modulador inflamatorio agudo, durante la última década se ha fortalecido la teoría de un efecto antifibrogénico directo del interferón en pacientes con hepatitis viral C.

Estudios realizados *in vitro* demuestran una disminución en los marcadores que traducen fibrogénesis, aumento en los marcadores que reflejan catabolismo de la colágena y demás componentes de la matriz extracelular, así como modificación en la activación de las células estelares (antes llamadas lipocitos o células de Ito), células primordialmente involucradas en la generación de fibrosis hepática.<sup>6</sup>

Estudios realizados en cultivos de células estelares humanas de individuos sanos demuestran inhibición de proliferación y síntesis de colágena después de tratamiento con interferón alfa. La inhibición de la proliferación parece relacionarse a la inhibición de síntesis de DNA, es dosis-dependiente y confirmada de manera directa mediante conteo celular. La inhibición en la síntesis se demuestra mediante la disminución en la expresión del RNAm de procolágena alfa I y III, así como del RNAm de alfa-actina de músculo liso (*alfa-SM actin*); las dos primeras, indicadoras de un efecto antifibrogénico a nivel pretranscripcional y la última comúnmente utilizada como marcador de activación de las células estelares.<sup>7,8</sup> Castilla y cols., en su estudio publicado en NEJM en 1991, confirmaron los hallazgos en relación con la expresión del RNAm de procolágenas I y III, en biopsias hepáticas de pacientes con hepatitis viral crónica y/o cirrosis, posterior al tratamiento con interferón por un año, encontrando normalización del péptido sérico de procolágena tipo III en pacientes que normalizaron transaminasas.<sup>9</sup>

Se ha sugerido que también el estrés oxidativo secundario a la inflamación crónica puede estar implicado en el proceso de fibrogénesis, mediante la activación de células estelares hepáticas a través de productos de li-

poperoxidación lipídica. Shimizu y cols.<sup>10</sup> demostraron que el IFN alfa presenta un efecto protector contra el estrés oxidativo, demostrado en hepatocitos de rata y en células estelares en cultivo. Se demostró un efecto protector dependiente de dosis y relacionado con un incremento en los niveles de superóxido dismutasa, así como en la actividad de la glutatión peroxidasa, con una consecuente disminución en los productos del estrés oxidativo en los hepatocitos y células estelares hepáticas activadas.

### ESTUDIOS EN HUMANOS

Suou y cols.<sup>11</sup> demostraron una disminución de los niveles séricos del propéptido de procolágena tipo III durante y después del tratamiento con interferón en 175 pacientes con hepatitis C comparados con 45 controles no tratados. Esta disminución fue sostenida por 12 meses después de suspender el tratamiento, observada en todos los pacientes tratados, independientemente de su respuesta bioquímica; mientras que en pacientes no tratados, los niveles no se modificaron. Otros estudios<sup>12-14</sup> concuerdan con estos hallazgos en pacientes con respuesta bioquímica al interferón, pero describen niveles del propéptido de procolágena tipo III que no se modifican en pacientes no respondedores al tratamiento. Desgraciadamente la correlación histológica de los hallazgos bioquímicos, esto es, un análisis objetivo que confirme la reversión del grado de fibrosis, ha sido por lo general deficiente, aun en estudios con seguimiento prolongado.<sup>15</sup>

Por lo que otros autores han intentado cuantificar la disminución total en la cantidad de colágena hepática mediante métodos de análisis morfométrico. Interesantemente, los resultados de algunos estudios logran demostrar una disminución significativa en la cantidad de colágena en pacientes tratados con interferón alfa, independientemente de su respuesta bioquímica,<sup>16</sup> efecto que ha sido documentado hasta 18 meses después del tratamiento.<sup>17</sup>

### ESTUDIOS EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C Y FIBROSIS

Existe suficiente evidencia de disminución en la progresión hacia la fibrosis en pacientes con hepatitis C que obtienen una respuesta virológica sostenida<sup>18-20</sup> y esto es secundario muy probablemente a un arresto en el estímulo fibrogénico. Por lo tanto, el papel del interferón en la fibrosis hepática de pacientes que no obtienen la erradicación viral posterior al tratamiento, así como en pa-

cientes cirróticos, es un punto clave para poder considerarlo como fármaco antifibrogénico.

### Pacientes no respondedores a terapia previa

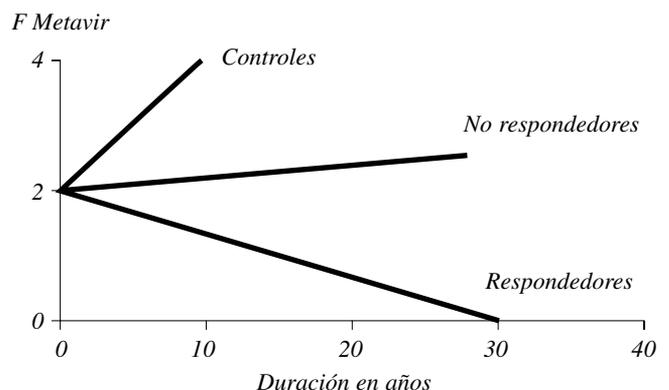
Con un mejor conocimiento de la enfermedad y la evolución en las técnicas moleculares, la definición del paciente no respondedor ha evolucionado. En la década previa, el término de no respondedor se atribuía a la falta de normalización de transaminasas durante el tratamiento. Actualmente el término de no respondedor se aplica a los pacientes con VHC-RNA positivo al final del tratamiento, definición que también podría ser modificada en un futuro por la presencia o ausencia de una respuesta histológica al tratamiento<sup>21,22</sup> debido a que la morbimortalidad asociada a la enfermedad es secundaria a las complicaciones de la cirrosis, no a la viremia persistente. Esta definición también involucra la terapéutica utilizada, pues a principios de los 90 el paciente no respondedor a monoterapia con interferón puede no serlo a la terapia combinada con interferón más ribavirina. Más aún, este último puede no serlo más a la combinación de interferón alfa pegilado con ribavirina a dosis optimizada.

Por lo dicho anteriormente, el objetivo primario en pacientes con viremia persistente y sin respuesta al tratamiento deberá enfocarse a una inhibición en la progresión de la fibrosis. Como ya fue comentado, múltiples estudios han documentado una correlación entre respuesta bioquímica, virológica e histológica en pacientes con respuesta a tratamiento, tanto en el grado de inflamación, como el estadio de fibrosis, y evidencia de modificación de la historia natural en cuanto a la progresión de la fibrosis tanto en pacientes con recaída y no respondedores, cuando se comparan con controles.<sup>17,19,23,24</sup> Otros estudios, como el metanálisis de Camma<sup>18</sup> con un total de 1,223 pacientes, documentaron ausencia de, o mínimos cambios en pacientes no respondedores. Estos hallazgos discrepantes no prueban una falta de eficacia, dado que los parámetros utilizados para medición en la modificación del grado de fibrosis utilizados en estos estudios (índice de actividad histológica o índice de Knodell)<sup>25</sup> se han considerado inadecuados para evaluar este objetivo y han sido criticados por combinar los puntajes de actividad inflamatoria con los de fibrosis<sup>26,27</sup> y darles valores intercambiables, hecho que disminuye su sensibilidad, además de ser un puntaje discontinuo y no lineal, entre otras objeciones, por lo que los estudios actuales evalúan separadamente el grado de actividad inflamatoria y el estadio de fibrosis.<sup>21</sup>

El grupo francés de Poynard y cols.<sup>21</sup> documentaron la tasa de progresión hacia la fibrosis en 287 pacientes mediante la escala de fibrosis METAVIR.<sup>28,29</sup> Incluyeron 185 pacientes tratados y 102 controles, todos con biopsias pareadas, y la tasa de progresión hacia la fibrosis en pacientes controles, no respondedores y respondedores se representa en la *figura 1*.

La tasa de progresión fue evaluada mediante la diferencia entre los estadios de fibrosis observados en ambas biopsias, divididos entre el lapso de tiempo entre las mismas. La progresión en los pacientes tratados disminuyó significativamente cuando fue comparada con la tasa antes del tratamiento, de 0.103 F METAVIR unidades por año (95% IC 0.087-0.120) a 0.000 (95% IC 0.000-0.000;  $p < 0.0001$ ), así como cuando se compararon pacientes tratados contra controles ( $p < 0.0001$ ) y cuando se comparó por respuesta al tratamiento ( $p < 0.0002$  respondedores vs. controles y  $p = 0.03$  vs. no respondedores). Estas diferencias persistieron después de tomar en cuenta variables confusoras (genotipo, viremia, sexo, edad de infección, duración de la infección y consumo de alcohol). Resultados confirmados por Shiffman y cols.,<sup>30</sup> específicamente en pacientes no respondedores que recibieron terapia de "mantenimiento" con interferón por un tiempo aproximado de 30 meses.

Shiratori y cols.<sup>31</sup> confirmaron los hallazgos en 487 pacientes que recibieron tratamiento con monoterapia y compararon la evolución histológica mediante la misma escala (METAVIR) contra 106 pacientes que no recibieron tratamiento. Todos contaban con biopsias pareadas (uno a 10 años, mediana 3.7 años). El grupo con respuesta viral sostenida (183/487, 37.6%) presentó una regresión significativa de la fibrosis en comparación con el grupo de no respondedores y con los controles. Concluyen que el principal factor asociado a la regresión de la fibrosis es la erradicación del virus, pero aun



**Figura 1.** Tasa de progresión hacia la fibrosis.

los pacientes que no obtuvieron respuesta al tratamiento presentaron progresión de la fibrosis menos acelerada en comparación con los enfermos que no recibieron tratamiento ( $0.02 \pm 0.02$  unidades de fibrosis/año vs.  $0.1 \pm 0.02$  unidades de fibrosis/año).

Por último, y de gran trascendencia, Poynard y cols.<sup>20</sup> analizaron recientemente 3,010 pacientes con biopsias pre y postratamiento, incluyen varios regímenes de tratamiento, desde monoterapia con IFN por 24 semanas hasta la combinación de interferón pegilado y ribavirina a dosis optimizadas (interferón pegilado  $1.5 \text{ g/kg/semana}$  y ribavirina  $> 10.6 \text{ mg/kg/día}$ ) por 48 semanas. Hubo, una vez más, una clara y fuerte asociación entre respuesta viral sostenida y mejoría de la fibrosis, de tal manera que sólo 7% de aquellos pacientes con respuesta viral sostenida presentaron un deterioro en el grado de fibrosis en la segunda biopsia hepática, mientras que este fenómeno se observó en 17% de los pacientes sin respuesta sostenida (recaída) y 21% entre los no respondedores ( $p < 0.001$  para ambas comparaciones). También existió una relación directa con el tipo de tratamiento recibido, de manera que la fibrosis progresó en 8% de los enfermos asignados al tratamiento optimizado, mientras que 25% de los pacientes con monoterapia por 24 semanas presentaron deterioro en el grado de fibrosis. Analizaron, además, la velocidad de progresión de la cirrosis, antes y después del tratamiento, y documentaron que en todos los enfermos hubo un descenso en la progresión de la fibrosis independientemente de la respuesta virológica obtenida. Cabe señalar que el efecto sobre la progresión de la fibrosis es difícil de evaluar, pues si bien no existe duda de que es un proceso dinámico, no resulta claro que este fenómeno sea lineal en relación con el tiempo. Ellos encontraron que sólo en el grupo de pacientes con fibrosis más avanzada (F2 a F4) y que respondieron al tratamiento, se observó regresión de la fibrosis ( $0.139$  unidades fibrosis/año antes del tratamiento a  $-0.591$  unidades fibrosis/año después del tratamiento antiviral,  $p = 0.001$ ).

Al analizar los efectos de los diferentes regímenes de IFN alfa en los pacientes que no presentaron respuesta viral (aquellos con recaída y no respondedores), los autores documentaron un beneficio significativo de la combinación de interferón pegilado  $0.5 \text{ g/kg}$  y ribavirina por 48 semanas en comparación con la monoterapia de IFN alfa por 24 semanas (21 vs. 12%  $p = 0.04$ ). Esta mejoría histológica parece estar explicada en el hecho de que en este grupo de enfermos es en el que se obtuvo con mayor frecuencia un descenso en el grado de actividad inflamatoria (50 vs. 37%  $p = 0.02$ ). Se identificaron

seis variables asociadas de manera independiente a la ausencia de fibrosis significativa (F0 o F1) en la biopsia hepática postratamiento: grado de fibrosis en la biopsia basal (a menor fibrosis mejor resultado), respuesta viral sostenida, índice de masa corporal  $< 27 \text{ kg/m}^2$ , actividad inflamatoria mínima o ausente en la biopsia inicial y carga viral  $< 3.5$  millones de copias/mL. Estos mismos factores, sin incluir la respuesta viral sostenida, estuvieron asociados a un mejor resultado histológico en los enfermos que no respondieron al tratamiento antiviral.

### Pacientes cirróticos

Contrario a lo que podría creerse, este beneficio puede observarse también en pacientes cirróticos tratados,<sup>32,33</sup> en quienes la correlación bioquímica, virológica e histológica es mucho menos confiable,<sup>32,34</sup> lo que significa que la falta de normalización de ALT o de negativización de VHC-RNA no excluye mejoría sobre el grado de inflamación o estadio de fibrosis.<sup>32</sup> Beneficio no solamente observado a nivel histológico, pues mediante un análisis retrospectivo del efecto de interferón sobre la sobrevida y eventos en pacientes con cirrosis viral, Benvegnú<sup>33</sup> y cols. encontraron mediante un análisis multivariado en 189 pacientes seguidos por aproximadamente 70 meses, que la posibilidad estimada de descompensación de cirrosis ( $p < 0.05$ ), desarrollo de carcinoma hepatocelular ( $p < 0.001$ ) y muerte o trasplante hepático ( $p < 0.005$ ) fue significativamente menor en pacientes cirróticos tratados cuando se compararon con pacientes no tratados; este efecto benéfico fue estadísticamente evidente únicamente en pacientes con VHC positivo.

En este momento se llevan a cabo ensayos clínicos controlados a nivel internacional para confirmar estos hallazgos, aunque la evidencia en relación con el carcinoma hepatocelular parece sugerir que el tratamiento con interferón puede disminuir la incidencia del mismo, principalmente en pacientes con respuesta sostenida al tratamiento.<sup>35-37</sup>

En el estudio de Shiratori y cols.<sup>31</sup> se demostró que 7.5% de los pacientes controles (sin tratamiento), 13% de los respondedores y 10% de los no respondedores presentaban cirrosis al momento de la biopsia inicial. De los pacientes que obtuvieron respuesta al tratamiento, 11 de los 24 cirróticos (46%) presentaron regresión de la cirrosis (cuatro a F3 y siete a F2), mientras que de los no respondedores, nueve de 30 (30%) cirróticos presentaron regresión del estadio de fibrosis en la segunda biopsia hepática (siete a F3, uno a F2 y uno a F1). Ninguno de los ocho enfermos cirróticos en el grupo control

presentó mejoría histológica al momento de la segunda biopsia hepática.

Una vez más, en el estudio de Poynard y cols.,<sup>20</sup> 153 de los 3,010 pacientes incluidos contaban con cirrosis al momento de la biopsia inicial. De manera notoria, 75 de ellos (49%) mostraron evidencia histológica de “reversión” de la cirrosis. En estos pacientes, la segunda biopsia hepática fue clasificada como fibrosis F3 en 23 pacientes, F2 en 26, F1 en 23 y F0 en tres, aunque sólo 33% presentó respuesta viral sostenida al tratamiento. Ninguno de los cirróticos que recibió monoterapia de IFN por 24 semanas presentó mejoría en el estadio de fibrosis. El único factor asociado a mejoría histológica en estos pacientes fue la presencia de respuesta viral sostenida.

De acuerdo con la evidencia demostrada, los pacientes cirróticos compensados deben ser tratados, con el objetivo primario de eliminar el virus y secundario de mejorar la histología hepática y retrasar la progresión a fibrosis, cirrosis y descompensación de la misma con disminución consecuente en la calidad de vida y la sobrevida.

## CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS A FUTURO

Existe en la actualidad evidencia clara que el proceso de fibrosis y cirrosis hepática es dinámico y potencialmente reversible, especialmente si se logra controlar o erradicar el agente causal, como en el caso de hepatitis C.<sup>38</sup> La evidencia de reversión de la fibrosis es clara en pacientes con respuesta viral sostenida, y resultados de diversos estudios clínicos sugieren que el interferón alfa puede interferir o retardar el proceso fibrogénico, además en pacientes sin respuesta al tratamiento y en cirróticos compensados. Es por ello que en la actualidad se realizan ensayos clínicos controlados en los que se pretende confirmar la utilidad del interferón alfa pegilado en pacientes sin respuesta viral a la terapia combinada, prolongando la monoterapia con interferón alfa a dosis bajas y por tiempo prolongado (tres a cinco años), e incluso en combinación con medicamentos antifibróticos.<sup>39-41</sup> Nos resta esperar los resultados de estos estudios, esperando en el mejor de los casos obtener efectos sinérgicos con estas combinaciones.

## REFERENCIAS

- Uribe M, Méndez-Sánchez N. Consenso Nacional sobre Hepatitis C. *Rev Gastroenterol Mex* 2002; 67 (Supl. 2): S7-S8.
- National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Management of Hepatitis C: 2002. *Hepatology* 2002; 36 (5) (Suppl. 1): S3-S15.
- El-Serag HB, Mason AC. Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States. *N Engl J Med* 1999; 340: 745-50.
- Wong JB, McQuillan GM, McHutchison JG, Poynard T. Estimating future hepatitis C morbidity, mortality, and costs in the United States. *Am J Public Health* 2000; 90: 1562-9.
- Tilg H. New insights into the mechanisms of interferon alfa: an immunoregulatory and anti-inflammatory cytokine. *Gastroenterology* 1997; 112: 1017-21.
- Brenner DA, Waterboer T, Choi SK, et al. New aspects of hepatic fibrosis. *J Hepatol* 2000; 32 (Suppl. 1): 32-8.
- Mallat A, Preaux AM, Blazejewski S, et al. Interferon alpha and gamma inhibit proliferation and collagen synthesis of human Ito cells in culture. *Hepatology* 1995; 21: 1003-10.
- Guido M, Ruge M, Chemello L, et al. Liver stellate cells in chronic viral hepatitis: the effect of interferon therapy. *J Hepatol* 1996; 24: 301-7.
- Castilla A, Prieto J, Fausto N. Transforming growth factors beta 1 and alpha in chronic liver disease. Effects of interferon alpha therapy. *N Engl J Med* 1991; 324: 933-40.
- Lu G, Shimizu I, Cui X, Itonaga M, Tamaki K, Fukuno H, Inoue H, Honda H, Ito S. Interferon- $\alpha$  enhances biological defense activities against oxidative stress in cultured rat hepatocytes and hepatic stellate cells. *J Med Invest* 2002; 49: 172-81.
- Suou T, Hosho K, Kishimoto Y, et al. Long-term decrease in serum N-terminal propeptide of type III procollagen in patients with chronic hepatitis C treated with interferon alpha. *Hepatology* 1995; 22: 426-31.
- Capra F, Casaril M, Battista G, et al. Interferon alpha in the treatment of chronic viral hepatitis: effects on fibrogenesis serum markers. *J Hepatol* 1993; 18: 112-8.
- Mitsuda A, Suou T, Ikuta Y, et al. Changes in serum tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 after interferon alpha treatment in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2000; 32: 666-72.
- Guéchet J, Loria A, Serfaty L, et al. Serum hyaluronan as a marker of liver fibrosis in chronic viral hepatitis C: effect of interferon alpha therapy. *J Hepatol* 1995; 22: 22-6.
- Abe S, Tabaru A, Ono M, Tai M, Narita R, Moriyama A, Otsuki M. High-dose interferon- $\alpha$  therapy lowers the levels of serum fibrogenesis markers over 5 years in chronic hepatitis C. *Hepatol Res* 2003; 25: 22-31.
- Manabe N, Chevallier M, Chossegros P, et al. Interferon alpha therapy reduces liver fibrosis in chronic non-A, non-B hepatitis: a quantitative histological evaluation. *Hepatology* 1993; 18: 1344-9.
- Duchatelle V, Marcellin P, Giostra E, et al. Changes in liver fibrosis at the end of alpha interferon therapy and 6 to 18 months later in patients with chronic hepatitis C: quantitative assessment by a morphometric method. *J Hepatol* 1998; 29: 20-8.
- Camma C, Giunta M, Linea C, et al. The effect of interferon on the liver in chronic hepatitis C: a quantitative evaluation of histology by meta-analysis. *J Hepatol* 1997; 26: 1187-99.
- Poynard T, McHutchinson J, Davis GL, et al. Impact of interferon alpha 2b and ribavirin on progression of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2000; 32: 1131-7.
- Poynard T, McHutchinson J, Manns M, Trepo C, Lindsay K, Goodman Z, Ling M, Albrecht J. Impact of pegylated interferon alpha-2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2002; 122: 1303-13.
- Poynard T, Moussali J, Ratzliff V, et al. Effects of interferon therapy in “non responder” patients with chronic hepatitis C. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. *J Hepatol* 1999; 31(Suppl. 1): 178-83.
- Di Bisceglie AM, Thompson J, Smith-Wilkaitis N, et al. Combination of interferon and ribavirin in chronic hepatitis C: re-treatment of nonresponders to interferon. *Hepatology* 2001; 33: 704-7.
- Everson T, Jensen D, Craig J, et al. Efficacy of interferon treatment for patients with chronic hepatitis C: comparison of response in cirrhotics, fibrotics, or non fibrotics. *Hepatology* 1999; 30: 271-6.

24. Sobesky R, Mathurin P, Charlotte F, et al. Modeling the impact of interferon alpha treatment on liver fibrosis progression in chronic hepatitis C: a dynamic view. *Gastroenterology* 1999; 116: 378-86.
25. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981; 5: 431-5.
26. Desmet, et al. Classification of chronic hepatitis: Diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994; 6: 1513-20.
27. Hubscher SG. Histological grading and staging in chronic hepatitis: clinical applications and problems. *J Hepatol* 1998; 29: 1015-22.
28. The METAVIR Cooperative Group. Inter- and intra-observer variation in the assessment of liver biopsy of chronic hepatitis C. *Hepatology* 1994; 20: 15-20.
29. Bedossa P, Poinard T, for The METAVIR Cooperative Study Group. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. *Hepatology* 1996; 24: 289-93.
30. Shiffman ML, Hofmann CM, Contos MJ, et al. A randomized, controlled trial of maintenance interferon therapy for patients with chronic hepatitis C virus and persistent viremia. *Gastroenterology* 1999; 117: 1164-72.
31. Shiratori Y, Imazeki F, Moriyama M, Yano M, Arakawa Y, Yokosuka O, Kuroki T, Nishiguchi S, Sata M, Yamada G, Fujiyama S, Yoshida H, Omata M. Histologic improvement of fibrosis in patients with hepatitis C who have sustained response to interferon therapy. *Ann Intern Med* 2000; 132: 517-24.
32. Everson G, Jensen D, Craig J, et al. Efficacy of interferon treatment for patients with chronic hepatitis C: comparison of response in cirrhotics, fibrotics, or nonfibrotics. *Hepatology* 1999; 30: 271-6.
33. Benvegnú L, Chemello L, Noventa F, et al. Retrospective analysis of the effect of interferon therapy on the clinical outcome of patients with viral cirrhosis. *Cancer* 1998; 83: 901-9.
34. Schiffman ML, Hofmann CM, Thompson EV, et al. Relationship between biochemical, virological and histological response during interferon treatment of chronic hepatitis C. *Hepatology* 1997; 26: 780-5.
35. Cammá C, Giunta M, Andreone P, et al. Interferon and prevention of hepatocellular carcinoma in viral cirrhosis: evidence-based approach. *J Hepatol* 2001; 34: 593-602.
36. Baffis V, Shrier I, Sheker AH, et al. Use of interferon for the prevention of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients with hepatitis B or hepatitis C virus infection. *Ann Int Med* 1999; 131: 696-701.
37. Yasuharu I, Sumio K, Shinji T, et al. Relation of interferon therapy and hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. *Ann of Internal Med* 1998; 129: 94-9.
38. Arthur MJP. Reversibility of liver fibrosis and cirrhosis following treatment for hepatitis C. *Gastroenterology* 2002; 122: 1525-8.
39. Friedman SL. Liver fibrosis – from bench to bedside. *J Hepatol* 2003; 38: S38-S53.
40. Shimizu I. Antifibrogenic therapies in chronic HCV infection. *Curr Drug Targets Infect Disord* 2001; 1: 227-40.