

Tratamiento de la hepatitis crónica por el virus de la hepatitis B

M. RUIZ MORENO*

INTRODUCCION

El virus de la hepatitis B (VBH) es un hepadnavirus, tipo DNA, que presenta una envoltura glucoproteica o antígeno de superficie (AgHBs) y la nucleocápside. En ésta se diferencia el antígeno del núcleo o core (AgHBc), el DNA, de 3,2Kb y doble hélice parcial, y la DNA polimerasa (DNA-p), además del AgHBe, fracción derivada del AgHBc al perder éste 34 aminoácidos. Cuando existe infección puede detectarse en suero: el antígeno de superficie, el virión completo o partícula de Dane, el AgHBc, una vez tratado por detergente el virión completo, el AgHBe, el DNA (DNA-VBH) y la DNA-p. La presencia de estos marcadores del VBH en el suero del paciente traduce la replicación activa del virus, y se corresponde con la primera fase de infección por el virus B, asociándose con actividad inflamatoria y necrótica hepática. La duración de esta primera etapa de la infección es impredecible, pudiendo variar de meses a años y se relaciona con edad, sexo, vía de contagio y capacidad inmunitaria del huésped frente al VBH.

Generalmente, cuando los marcadores anteriores desaparecen del suero, comienza a detectarse en éste la presencia de antiHBe (seroconversión) (1), que se corresponde con el cese de replicación del virus y suele asociarse con la desaparición en la célula hepática del AgHBc y de las formas replicativas, libres o episomales, del DNA-VBH (2).

La seroconversión traduce el previo reconocimiento inmunológico por los linfocitos de los antígenos diana en la membrana del hepatocito, así como la lisis celular, necesaria para erradicar el virus del organismo. Esta situación se evidencia por el incremento agudo de transaminasas, que es predictivo de seroconversión posterior. Después de esta primera fase mejora la morfología hepática al ceder la necrosis y desaparecer la actividad inflamatoria. Únicamente persisten en hígado las lesiones que son irreversibles, como cirrosis hepática, y las formas ya integradas del DNA-VBH que son precursoras de carcinoma hepatocelular (3). Finalmente, desaparece del suero el AgHBs y aparece su anticuerpo, (antiHBs), lo cual traduce clínicamente el estado de curación de la infección por el VBH y la erradicación total del mismo (1).

Sin embargo, existen algunos casos en los que es indetectable el DNA-VBH por las técnicas habituales, (dot blot), hay antiHBe y AgHBs en suero y las transaminasas o pueden estar normales o seguir alteradas. Estos casos suelen relacionarse con persistencia de daño necrótico en hígado y, en ocasiones, con DNA-VBH integrado en el genoma del huésped. Como se ha comprobado recientemente (4), en estos pacientes existe, la mayoría de las veces, DNA-VBH en suero y tejido, pero en concentraciones tales que sólo la aplicación técnica de la reacción de la polimerasa en cadena (PCR), para su detección,

* Servicio de Pediatría. Fundación Jiménez Díaz. Universidad Autónoma. Madrid.
Conferencia pronunciada en el III Memorial Profesor «Guillermo Arce».

puede ponerlo de manifiesto (detecta de 10 a 100 partículas de VBH por ml, frente a 10^5 - 10^6 detectadas por dot blot) (5).

La edad del paciente al contagiarse por el VBH influye en el grado de tolerancia inmunológica al virus. Si el contagio se produce en el periodo neonatal la tolerancia es mayor y persiste la replicación activa viral en porcentaje significativamente más alto que cuando la infección se produce en el adulto (6). La prolongación de la fase de multiplicación viral traduce el estado crónico de infección del virus B y, como se ha comprobado (7), se correlaciona con una progresión de la patología hepática a mayor actividad necrótica y/o cirrosis (8), carcinoma hepático (9) e incluso muerte (10).

La tasa anual de pacientes que seroconvierten espontáneamente a AntiHBe está entre 5 y 15% (7,11), por lo que parece imprescindible encontrar una terapia eficaz que ayude al paciente a erradicar el VBH de su organismo antes de que se produzca la integración del DNA-VBH en el genoma de sus células y de que la lesión hepática sea irreversible.

El tratamiento debe ir dirigido a la primera fase de la infección del virus B, la de replicación activa y con ello podrá controlarse el contagio, la progresión de la enfermedad, y la aparición posterior del carcinoma hepático (12). Así, en los enfermos candidatos al tratamiento deberán detectarse, durante un periodo superior a seis meses, los marcadores de replicación viral: DNA-VBH, DNA-p y AgHBe en suero y AgHBc y las formas episomales del DNA-VBH (12) en tejido. El incremento de los niveles séricos de alaninaminotransferasa (ALAT) expresa el daño necrótico hepático que, según se debe apreciar en la biopsia, podrá variar entre hepatitis lobular, persistente y activa, con o sin cirrosis (7,11).

Los tratamientos ensayados hasta ahora frente al VBH son de dos tipos: inmunomoduladores y antivirales.

TRATAMIENTO INMUNOMODULADORES

Entre los moduladores de la respuesta inmune están los inmunoestimulantes (levamisol, interleukina 2, BCG) y los inmunodepresores (esteroides, azatioprina).

Levamisol

Aumenta el número de células T y estimula a los macrófagos. Fattovich y col. comprobaron su eficacia frente a la hepatitis crónica (HC) por VBH (13). Sin embargo, se precisa de estudios más amplios, controlados y bien randomizados, para poderlo asegurar.

Interleukina 2 (IL-2)

Es un factor de crecimiento de células T, producido al ser éstas estimuladas por mitógenos o antígenos específicos. También actúa sobre las células «Natural Killer» e induce la formación de interferón gamma. Kakumu y col. realizaron un estudio piloto de tratamiento con interleukina-2 en pacientes con hepatitis crónica, cuyo resultado no mostró eficacia del fármaco (14). Se precisa de más estudios, con otras dosis y pautas de tratamiento y quizás en asociación con otros antivirales, ya que desde un punto de vista teórico esta medicación cumple los objetivos que se persiguen, al estimular la respuesta inmunológica del paciente.

BCG.

En 1978, Brzosko y col. utilizaron esta vacuna como inmunoestimulante humoral y celular en 20 niños con HC activa, observando resultados prometedores (15) aunque no fueron comprobados en 1980 por Bassendine y col. en otro estudio piloto (16).

Otros inmunomoduladores empleados en el tratamiento de HC por VBH (17) han sido el antiHBs y el factor de

transferencia. El *anti-HBs* se administró con objeto de bloquear las partículas de Dane circulantes. Aunque fue bien tolerada, la formación de inmunocomplejos complicó el resultado de esta terapia. El *factor de transferencia*, obtenido de leucocitos de sujetos que habían superado la hepatitis B aguda, fue ineficaz (18).

Retirada de esteroides

Así como el tratamiento convencional con esteroides está contraindicado en HC por virus B, su retirada provoca inmunestimulación. En suero se observa entonces disminución transitoria de los niveles de DNA-p, DNA-VBH y AgHBe incremento de transaminasas (19), factores todos ellos que predisponen a una buena respuesta al tratamiento con antivirales (12,20). Es importante tener en cuenta que su retirada brusca puede originar necrosis hepatocelular aguda y dar lugar a una hepatitis fulminante, que entraña riesgo de mortalidad (12).

Inmunodepresores

La inhibición de la actividad de las células T permite mantener el estado de tolerancia al VBH y potencia su replicación activa. El tratamiento con esteroides a dosis habituales y/o en pauta prolongada de administración, retrasa la seroconversión a antiHBe, la remisión histológica y la erradicación del virus y potencia su posibilidad de contagio. Diversos trabajos (21,22) han demostrado su peligrosidad en el tratamiento de HC por VBH, por lo que actualmente no se contempla su administración aislada (12). Por otra parte, el VBH tiene un receptor glucocorticoide (23) que podría actuar como un «enhancer» aumentando la replicación viral. Esta es la explicación hipotética que se ha invocado para explicar la reactivación de la replicación del VBH en pacientes que ya tenían en suero antiHBe y en los que quizás existiera el DNA-VBH en forma superenrollada e inactiva en el citoplasma de sus hepatocitos.

Finalmente, como es bien sabido, el incremento y mayor duración de la replicación del VBH puede dar lugar a la integración del DNA-VBH en el genoma de las células del huésped favoreciendo, en circunstancias especiales, la posterior aparición del carcinoma hepatocelular (3,10).

TRATAMIENTOS ANTIVIRALES

Puede ser sintéticos (arabinósido de adenina, su derivado monofosfato, aciclovir, foscarnet y suramina) y naturales (interferones).

Arabinósido de adenina (ARA-A)

Es la vidarabina o 9-beta-D-arabinofuranosil adenina. Fue el primer antiviral admitido por la FDA. Debido a su insolubilidad y corta vida media, entre 3 y 5 horas se debe administrar en infusión continua, por vía intravenosa. Es activo frente a diversos virus inhibiendo la síntesis del DNA-VBH por bloqueo de la DNA-p. Su grado de eficacia oscila entre 17 y 43% (24,25), pero por su delicada utilización ha sido sustituido, con ventaja, por su derivado 5' monofosfato.

Arabinósido de adenina 5' monofosfato (ARA-AMP)

Puede administrarse por vía intramuscular con buena tolerancia. La dosis recomendada es la de 10 mg/kg/d, durante 3 ó 5 días y después 45 mg/kg/d, hasta completar el mes de tratamiento. De los diversos ensayos terapéuticos con este fármaco se han obtenido resultados muy variables, desde ineficacia total (26) hasta conseguir el 55% de inhibición de la replicación viral (27). Esta divergencia evidencia la diversidad de criterios utilizados para la inclusión de enfermos en las diferentes pautas de tratamiento. Por otra parte, son importantes los efectos secundarios que provoca.

Aciclovir

La acicloguanosina (9-2 hidroxietoxi-metilguanina) actúa únicamente al ser fosforilado a su principio activo (aciclovir trifosfato) para lo cual precisa de la actividad de la timidinquinosa viral, enzima que no existe en el VBH. El aciclovir tiene una vida media de 3 horas y se elimina por riñón. Su acción es sobre todo frente a los virus varicela-zóster y su administración aislada a pacientes con HC por VBH no ha demostrado eficacia alguna (28).

Foscarnet.

Es el fosfonoformato trisódico. Inhibe la DNA-p, con lo que disminuye la concentración de DNA-VBH. Son precisos más estudios, randomizados y controlados, con esta medicación puesto que únicamente se ha podido mostrar su eficacia en un caso de hepatitis fulminante (29).

Antivirales naturales: interferones

Son glucoproteínas producidas en cada especie animal como parte de la defensa natural frente a las infecciones virales. Existen tres tipos diferentes de interferones: alfa, beta y gamma. El alfa procede de leucocitos y linfoblastos. El beta, de los fibroblastos tratados con ácidos nucleicos de doble cadena y el gamma, de linfocitos expuestos a mitógenos o a antígenos específicos. Difieren en su composición de aminoácidos, propiedades físico-químicas y en el receptor celular específico, que es común para el alfa y beta y diferente para el gamma (30).

Como resultado de la aplicación de la tecnología de DNA recombinante se ha podido conseguir gran producción industrial de interferones (recombinantes), por clonación de los genes responsables en *Escherichia coli* (30).

Los interferones tienen tres funciones, antiproliferativa, antiviral e inmuno-

moduladora, estas dos últimas de interés por su acción beneficiosa en la HC por VBH, (30).

En síntesis, el interferón se une al receptor específico de membrana y se cree que puede ejercer su función antiviral sin necesidad de interiorizarse en la célula. Por un lado, su presencia activa la enzima 2'-5'oligoadenilato sintetasa (2'-5'AS) y ésta a una ribonucleasa que degrada al RNA mensajero viral, inhibiendo la síntesis de proteínas virales. La otra función antiviral la consigue al activar una proteinquinasa, que se encarga de fosforilar, inactivándolo, al factor de iniciación de la síntesis proteica viral (elf2) (30).

La función inmunológica consiste en, por una parte, aumentar la expresión en membrana de los antígenos de histocompatibilidad (HLA) clases 1 (interferón alfa) y 2 (interferón gamma), permitiendo su identificación por los linfocitos T citotóxicos. También aumenta la población de las células «natural Killer» (NK) y el cociente CD4/CD8, (30).

Los resultados del tratamiento con IFN alfa recombinante en adultos oscilan entre 40 y 60% (31), aunque el aclaramiento del AgHBe llega al 34% en los tratados entre 1 y 6 meses (32). La mejor dosis y pauta parece ser la de 10 μm^2 de superficie corporal (SC), 3 veces por semana y de 4 a 6 meses (12).

En niños existen estudios contradictorios. Lai y cols. (33), en niños chinos, no lograron demostrar su eficacia. Sin embargo, Labanda y cols. (34) observaron efecto antiviral, aunque éste no era significativo. Ruiz Moreno y cols (20), en un estudio controlado y randomizado, observaron negativización significativa del DNA-VBH de los tratados frente a los controles, pero los resultados se igualaron al finalizar el periodo de seguimiento. El tratamiento fue de 10 μm^2 SC 3 veces por semana durante

3 meses. Al retirar la terapia se observó nuevo incremento de la concentración de DNA-VBH en suero en los pacientes que aún no habían negativizado este marcador. Otro estudio del mismo grupo de autores en el que mantenían la dosis y la pauta anterior pero prolongando el periodo de tratamiento a 6 meses, logró demostrar la eficacia del IFN alfa recombinante en niños con HC, ya que un 58% ($p < 0.005$) negativizaron el DNA-VBH y en la mayoría de ellos se observó seroconversión a antiHBe, normalidad de las transaminasas y mejoría de la morfología hepática en la biopsia obtenida al final del seguimiento (15 meses) (35). No se observaron reactivaciones. En todos los pacientes que habían respondido al tratamiento persistió el AgHBs en suero, hecho que aunque es importante, no excluye la eficacia del IFN, ya que se precisa el transcurso de algunos años después de la serconversión a antiHBe para que desaparezca el AgHBs y se tenga así la seguridad de la erradicación total del virus B(36).

Los diferentes resultados en niños pueden explicarse por diversos motivos: pueden responder al tratamiento observada en general en sujetos de raza china (37), menor edad media de los pacientes incluidos en el estudio de Lai y cols. que 22 de sus 24 pacientes tuvieran basalmente normales las transaminasas (33), y, finalmente, que el 80% de ellos presentaran anticuerpos antiIFN neutralizantes, que, como se sabe, pueden evitar la eficacia del tratamiento (39).

Tanto en adultos como en niños con HC por VBH (12,20) existen factores predictivos de respuesta a la terapia. Responden mejor los pacientes con mayor actividad hepática basal (mayor nivel de ALAT, mayor índice de Knodell) y menor grado de replicación viral (menor concentración de DNAp-VBH, y de DNA-VBH en suero, y menor núme-

ro de hepatocitos con AgHBc). Ambos aspectos indican la mejor capacidad inmunitaria del organismo para reconocer y destruir a los hepatocitos infectados con el VBH.

Aunque el interferón alfa recombinante es bien tolerado, se suelen observar ciertos efectos secundarios a su administración (12,20). Consisten en un síndrome seudogripal, que cursa con fiebre, mialgias, cefaleas, escalofríos y persiste una media de 2 semanas. Además, los pacientes tratados presentan astenia, anorexia y caída difusa de pelo, todo ello poco significativo aunque se prolongue durante todo el tiempo que dura el tratamiento. También se ha comprobado cierto grado de leucopenia y trombopenia (20). En algunas ocasiones el tratamiento va seguido de formación de anticuerpos anti-interferón, hecho que aparece con mayor frecuencia en adultos (38). Si los anticuerpos son neutralizantes y se desarrollan cuando el paciente está aún con marcadores de replicación activa viral, éste no responderá al tratamiento (39).

Interferón gamma

Existen pocos estudios con esta medicación pero, tanto en adultos como en niños, los resultados no parecen mejorar a los obtenidos con interferón alfa y las complicaciones parecen mayores (12,40,41).

Terapia combinada

Con objeto de mejorar el grado de respuesta al tratamiento obtenido con los antivirales, se procedió a realizar ensayos terapéuticos utilizando combinaciones de antivirales y entre éstos e inmunomoduladores (estimuladores y supresores). Hasta ahora no parece que el grado de eficacia obtenido con estas combinaciones sea más eficaz que el logrado con el interferón solo, sobre

todo teniendo en cuenta la potenciación observada de los efectos colaterales.

Retirada esteroidea y antivirales

El objeto de esta combinación terapéutica fue aprovechar el efecto de la disminución de la replicación viral observada al retirar los esteroides, dados durante un corto periodo de tiempo (12), con el subsiguiente tratamiento de un antiviral (ARA-A; ARA-AMP o interferones). Se administra el fármaco antiviral cuando el organismo experimenta un estímulo inmunológico, conseguido al retirar los esteroides, efecto cuyo mecanismo aun no se ha dilucidado.

En 1985 Perrillo y col. (26) observaron el aclaramiento del AgHBe en el 73% de pacientes con HC por VBH tratados con prednisolona seguida de ARA-AMP y el resultado fue significativamente superior al obtenido con cada agente terapéutico por separado. El mismo año, a Yokosuka y cols. (42) les respondieron, aclarando el AgHBe, el 67% de los tratados con prednisolona seguida de ARA-A frente al 17% de los que recibieron sólo ARA-A. Sin embargo, aunque la mayoría de los pacientes no tienen complicaciones hay descritos casos de descompensación cirrótica (43) e incluso muerte (44), lo cual obliga a indicar esta terapia con precaución y seleccionando previamente los pacientes para que la retirada de esteroides no produzca necrosis hepatocelular aguda (12).

El mismo esquema de tratamiento y persiguiendo similares objetivos fue seguido por Omata y col. en 1985 al utilizar prednisolona seguida de interferón alfa. Al igual que Perrillo y col. en 1986 (45) obtuvieron mejores resultados que los que se lograban con interferón solo en relación a la pérdida de la DNA-p y del DNA-VBH en suero (6%). Sin embargo, no observaron diferencias con respecto al aclaramiento del AgHBe. En

1989, Perrillo y col. dieron a conocer resultados similares con los dos tipos de tratamiento, (esteroides seguido de alfa interferón versus interferón solo), obtenidos de un estudio multicéntrico (46).

Lai y col. (47) han realizado en niños chinos un estudio randomizado y controlado, utilizando un ciclo corto de predmisona (dosis entre 0.6-0.2 mg/kg/d, 6 semanas) seguido de interferón alfa recombinante (alfa 2b: 5 μ m², tres veces en semana, 16 semanas). Obtuvieron un aclaramiento del AgHBe en el 13% de los tratados con la terapia combinada versus 3% con placebo e IFN solo y 0% en los controles (pns). Observaron peor respuesta en los niños con edad menor en 10 años. En conclusión, parece que este tipo de terapia tampoco mejora significativamente en niños chinos los resultados obtenidos con el exclusivo tratamiento de interferón alfa. Quizás sean precisas otras pautas de tratamiento y otras dosis para extraer una conclusión definitiva.

Otros tratamientos combinados

La asociación entre antivirales también ha sido ensayada como tratamiento del HC por VBH y, en algunos casos, los resultados fueron prometedores. En 1985, Schalm y col. (48) utilizaron aciclovir e interferón alfa recombinante en un estudio piloto, obteniendo un grado de respuesta del 60% y en 1988 De Man y col. (49) utilizaron desciclovir (derivado del aciclovir) con resultados similares. La combinación de interferón alfa y gamma no ha mejorado el grado de eficacia en adultos (40) como en niños (41) obtenido con el interferón alfa exclusivamente. Caselmann et al. (50) utilizan una combinación de interferones beta y gamma durante 28 días, con importantes efectos colaterales y pérdida del AgHBe en el 50% de los pacientes.

BIBLIOGRAFIA

1. HOOFNAGLE, J.H.; DUSHEIKO, G.M.; SEFF, L.B. et al.: *Seroconversión from hepatitis B e antigen to antibody in chronic type B hepatitis*. Ann. Inter. Med. 1981; 94: 744-748.
2. BARTOLOME, J.; MORALES, G.; RUIZ MORENO, M.; et al.: *Hepatitis B virus DNA patterns in the liver of children with chronic hepatitis B*. J. Med. Virol. 1990; 31: 195-199.
3. IMAZEKI, F.; OMATA, M.; YOKOSUKA, O.; OKUDA, K.: *Integration of hepatitis B virus DNA in hepatocellular carcinoma*. Cancer 1986; 58: 1055-1060.
4. MORALEDA, G.; BARTOLOME, J.; MOLINA, J. y col.: *Estudio de la causa de la lesión histológica en pacientes anti-HBe positivo*. Gastroenterol. Hepatol. 1990; 13: 178.
5. SUMAZAKI, R.; MOTZ, M.; WOLF, H.; et al.: *Detection of hepatitis B virus in serum using amplification of viral DNA by means of the polymerase chain reaction*. J. Med. Virol. 1989; 27: 304-308.
6. LOK, A.S.F.; LAI, C.L.; WU, P.C.; et al.: *Spontaneous hepatitis B e antigen to antibody seroconversion and reversion in Chinese patients with chronic hepatitis B virus infection*. Gastroenterology 1987; 92: 1839-1843.
7. RUIZ MORENO, M.; CAMPS, T.; GARCIA AGUADO, J.; y col.: *A Serological and histological follow-up of chronic hepatitis B infection*. Arch. Dis. Child 1989; 64: 1165-1169.
8. WEISSBERG, J.; ANDRES, L.L.; SMIT, C.L.; et al.: *Survival in chronic hepatitis B*. An analysis of 379 patients. Ann. Intern. Med. 1984; 101: 613-616.
9. WU, T.C.; TONG, M.J.; HWANG, B.; et al.: *Primary hepatocellular carcinoma and hepatitis B infection during childhood*. Hepatology 1987; 7: 46-48.
10. BEASLEY, R.P.: *Hepatitis B virus as the etiologic agent in hepatocellular carcinoma epidemiologic considerations*. Hepatology 1982; 2: 215-265.
11. VIOLA, L.A.; BARRISON, I.G.; COLEMAN, J.C.; et al.: *Natural history of liver disease in chronic hepatitis B surface antigen carriers*. Survey of 100 patients from Great Britain. Lancet, 1981; 2: 1156-1159.
12. PERRILLO, R.P.: *Treatment of chronic hepatitis B with interferon: experience in Western Countries*. Seminars in Liver Disease 1989; 9: 240-248.
13. FATTOVICH, G.; CADROBBI, F.; CRIVELLARO, C.; et al.: *Virological changes in chronic hepatitis type B treated with levamisole*. Gastroenterology 1986; 91: 692-696.
14. KAKUMU, S.; FUJI, A.; YOSHIOKA, K.; et al.: *Pilot study of recombinant human interleukin 2 for chronic type B hepatitis*. Hepatology 1988; 8: 487-492.
15. BRZOSKO, W.J.; DEBSKI, R.; DERECKA, K.: *Immunoestimulation for chronic active hepatitis*. Lancet, 1978; 2: 311.
16. BASSENDINE, M.F.; WELLER, I.V.D.; MURRAY, A.; et al.: *Treatment of HBsAg positive chronic liver disease with Bacillus Calmette Guerin (BCG)*. Gut. 1980; 81: A915.
17. REED, W.D.; EDELSTON, A.L.W.F.; CULLENS, H.: *Infusion of hepatitis-B antibody in antigen-positive active chronic hepatitis*. Lancet, 1973; 2: 1347-1351.
18. TONG, M.J.; NYSTROM, J.S.; REDEKER, A.G.; MARSHALL, G.J.: *Failure of transfer-factor therapy in chronic active type B hepatitis*. N. Engl. J. Med. 1976; 295: 209-211.
19. SCULLARD, G.H.; SMITH, C.I.; MERIGAN, T.C.; et al.: *Effects of immunosuppressive therapy on viral markers in chronic viral hepatitis B*. Gastroenterology 1981; 81: 978-991.
20. RUIZ MORENO, M.; JIMENEZ, J.; PORRES, J.C.; et al.: *A controlled trial of recombinant interferon-alpha in Caucasian children with chronic hepatitis B*. Digestion 1990; 45: 26-33.
21. LAM, K.C.; LAI, C.L.; TREPO, C.; WU, P.C.: *Deleterious effect of prednisolone in HBsAg-positive chronic active hepatitis*. N. Engl. J. Med. 1981; 304: 380-386.
22. WU, P.C.; LAU, C.I.; LAM, K.C.; HO, J.: *Prednisolone in HBsAg-positive chronic active hepatitis: histologic evaluation in a controlled prospective study*. Hepatology 1982; 2: 777-783.
23. TUR-KASPA, R.; BURK, R.D.; SHAUL, Y.; SHAFRITZ, D.A.: *Hepatitis B virus DNA contains a glucocorticoid-responsive element*. Proc. Natl. Acad. Sci. 1986; 83: 1627-1631.
24. SCULLARD, G.H.; ANDRES, L.; GREENBERG, J.L.; et al.: *Antiviral treatment of chronic hepatitis B virus infection: improvement in liver disease with interferon and adenine arabinoside*. Hepatology 1981; 1: 228-232.
25. BASSENDINE, M.F.; CHADWICK, R.G.; SALMERON, J.; et al.: *Adenine arabinoside therapy in HBsAg-positive chronic liver disease: a controlled study*. Gastroenterology 1981; 80: 1016-1022.

26. PERRILLO, R.F.; REGENSTEIN, F.G.; BODICKY, C.J.; et al.: *Comparative efficacy of adenine arabinoside 5' monophosphate and predmisonone withdrawal followed by adenine arabinoside 5' monophosphate in the treatment of chronic active hepatitis type B*. Gastroenterology 1985; 88: 780-786.
27. TREPO, C.; HANTZ, O.; OUZAN, D.; et al.: *Therapeutic efficacy of ARA-AMP in symptomatic HBeAg positive CAH: a randomized, placebo control study*. Hepatology 1984; 4: 1055.
28. ALEXANDER, G.J.M.; HEGARTY, J.E.; FAGAN, E.; et al.: *Controlled trial of acyclovir in chronic HBsAg, HBeAg positive carriers*. J. Hepatol. 1985; S1-S3.
29. PRICE, J.S.; FRANCE, A.J.; MOAVEN, L.D.; WELSBY, P.D.: *Foscarnet in fulminant hepatitis B*. Lancet 1986; 2: 1273.
30. PETERS, M.: *Mechanisms of action of Interferons*. Seminars in Liver Disease, 1989; 9: 235-239.
31. PORRES, J.C.; CARREÑO, V.; MORA, I.; et al.: *Different doses of recombinant interferon alpha in the treatment of chronic hepatitis B patients without antibodies against the human immunodeficiency virus*. Hepatol. Gastroenterol. 1988; 35: 300-303.
32. DAVIS, G.L.; HOOFNAGLE, J.H.: *Interferon in viral hepatitis: role in pathogenesis and treatment*. Hepatology 1986; 6: 1038-1041.
33. LAI, C.L.; LOK, A.S.F.; LIN, H.J.; et al.: *Placebo-controlled trial of recombinant alpha 2-interferon in Chinese HBsAg-carrier children*. Lancet, 1987; 2: 877-880.
34. LABANDA, F.; RUIZ MORENO, M.; CARREÑO, V.; et al.: *Recombinant alpha 2-interferon treatment in children with chronic hepatitis B*. Lancet 1988; 1: 250.
35. RUIZ MORENO, M.; RUA, M.J.; GARCIA AGUADO, J.: *Eficacia del interferón en el tratamiento de la hepatitis crónica por VHB en la infancia: estudio controlado*. Gastroenterol. Hepatol. 1990; 13: 170.
36. KORENMAN, J.C.; DIS BISCEGLIE, A.M.; BAKER, B.L.; et al.: *Loss of hepatitis B surface antigen following treatment of chronic hepatitis B with alpha interferon*. Abstracts of the 1990 International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease, Houston (Texas), p. 127.
37. LOK, A.S.F.; LAI, C.L.; WU, P.C.: *Treatment of chronic hepatitis B with interferon: experience in Asian patients*. Seminars in Liver Disease 1989; 9: 249-253.
38. PORRES, J.C.; CARREÑO, V.; RUIZ MORENO, M.; et al.: *Interferon antibodies in patients with chronic HBV infection treated with recombinant interferon*. J. Hepatol 1989; 8: 351-357.
39. VALLBRACHT, A.; TREUNER, T.; FLECHMIG, B.; et al.: *Interferon neutralizing antibodies in a patient treated with human fibroblast interferon*. Nature 1981; 287: 496-498.
40. ZAMORA, L.; PORRES, J.C.; PEON, A.; y col.: *Terapia antiviral combinada de la hepatitis crónica por virus B con interferón recombinante alfa y gamma*. Gastroenterol. Hepatol. 1989; 12: 255.
41. RUIZ MORENO, M.; GUARDIA, L.; PORRES, J.C.; et al.: *Combined antiviral therapy in chronic hepatitis B in childhood*. J. Hepatol. 1989; 9: S194.
42. YOKOSUKA, O.; OMATA, M.; IMAZeki, F.; et al.: *Combination of short-term predmisonone and adenine arabinoside in the treatment of chronic hepatitis B: a controlled study*. Gastroenterology 1985; 89: 246-251.
43. NAIR, P.V.; TONG, M.J.; STEVENSON, D.; et al.: *Effects of short-term, high-dose prednisone treatment of patients with HBsAg-positive chronic active hepatitis*. Liver 1985; 5: 8-12.
44. BUTI, M.; ESTEBAN, R.; ESTEBAN, J.I.; et al.: *Severe hepatic failure after ARA-A-predmisonone for chronic type B hepatitis*. Gastroenterology 1987; 92: 274-275.
45. PERRILLO, R.P.; REGENSTEIN, F.G.; PETERS, M.G.; et al.: *Predmisonone withdrawal followed by recombinant alpha interferon in the treatment of chronic type B hepatitis. A randomized, controlled trial*. Ann. Intern. Med. 1988; 109: 95-100.
46. PERRILLO, R.P.; SCHILL, E.R.; DAVIS, G.L.; et al.: *A randomized controlled trial of interferon alpha 2b alone and after prednisone withdrawal for the treatment of chronic hepatitis B*. N Engl. J. Med. 1990; 323: 295-301.
47. LAI, C.L.; LOK, A.S.F.; LIN, H.J.; et al.: *Use of recombinant alpha 2 interferon (r-IFN) with or without steroid in Chinese HBsAg carrier children: A prospective doubleblind controlled trial*. Gastroenterology 1989; 96 (Suppl.): A618.
48. SCHALM, S.W.; HEYTING, R.A.; VAN BUUREN, H.R.; DE MAN, R.A.: *Acyclovir enhances the antiviral effects of interferon in chronic hepatitis B*. Lancet 1985; 2: 358-360.
49. DE MAN, R.A.; SCHALM, S.W.; HEIJTING, R.A.; et al.: *Interferon plus descyclovir in chronic hepatitis type B: Incidence of virus marker elimination and reactivation*. In: ZUCKERMAN,

- A.J., (ed): *Viral Hepatitis and Liver Disease*. New York, Alan R. Liss 1988, pp. 913-916.
50. CASELMAN, W.H.; EISENBURG, J.; HOFSCHEIDER, P.H.; KOSHY, R.: *Beta and gamma interferon in chronic active hepatitis B. A pilot trial of short-term combination therapy*. *Gastroenterology* 1989; 96: 449-455.