

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA



## **TESIS DOCTORAL**

Utilidad de los marcadores no invasivos de fibrosis hepática en la predicción de hepatocarcinoma tras la respuesta viral sostenida en pacientes con fibrosis avanzada y cirrosis compensada por el virus de la hepatitis C

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Adriana María Ahumada Jiménez

DIRECTORES

Sonia Alonso López  
Diego Rincón Rodríguez  
Rafael Bañares Cañizares

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICO-QUIRÚRGICAS**



**TESIS DOCTORAL**

**“Utilidad de los marcadores no invasivos de fibrosis hepática en la predicción de hepatocarcinoma tras la respuesta viral sostenida en pacientes con fibrosis avanzada y cirrosis compensada por el virus de la hepatitis C”**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADO POR:  
**Adriana María Ahumada Jiménez**

DIRIGIDO POR LOS DOCTORES:  
**Sonia Alonso López**  
**Diego Rincón Rodríguez**  
**Rafael Bañares Cañizares**

Madrid 2023

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, quiero agradecer a mis directores de tesis, muy especialmente a Sonia Alonso, por idear este trabajo, impulsarme y motivarme para llevarla cabo, por confiar en mí y enseñarme cada día a ver lo mejor de esta profesión. A Diego Rincón, que ha sido mi tutor y referente en mi carrera desde el primer momento, y a Rafael Bañares, por su generosa dedicación, no solo al desarrollo de esta tesis, sino a mi crecimiento profesional, motivándome y transmitiéndome su confianza cuando más lo he necesitado.

A mis padres, porque me lo han dado todo y han hecho lo imposible para que pueda cumplir mis sueños, aún en la distancia.

A Pedro, desde hace años mi compañero, mi mayor apoyo y cómplice, que me hace la vida más fácil y me recompone cuando más lo necesito.

A mi hijo Pedro, que me ha cambiado la vida y es el responsable que cada día quiera ser mejor persona y profesional.

A mi hermano Víctor, que desde pequeños me ha enseñado que siempre hay que apuntar alto.

A mis compañeros del Servicio de Aparato Digestivo del Hospital Gregorio Marañón, mi pequeña familia. Gracias por la amistad incondicional.

*Dedico este trabajo a mis padres*

## **ABREVIATURAS**

**VHC.** Virus de la hepatitis C

**CHC.** Carcinoma hepatocelular

**RVS.** Respuesta viral sostenida

**OMS.** Organización Mundial de la Salud

**ARN.** Ácido ribonucleico

**AAD.** Antivirales de acción directa

**UDVP.** Usuarios de drogas por vía parenteral

**DM.** Diabetes Mellitus

**ET.** Elastografía de transición

**FIB-4.** Fibrosis 4

**FS.** FibroScan®

**KPa.** Kilo Pascales

**mg.** Miligramos

**dL.** Decilitros

**g.** Gramos

**UI.** Unidades internacionales

**L.** Litro

**RI.** Resistencia a la insulina

**VHB.** Virus de la hepatitis B

**VIH.** Virus de la inmunodeficiencia humana

**PCR.** *Polymerase chain reaction*

**INF.** Interferón

**RBV.** Ribavirina

**PEG-INF.** Interferón pegilado

**BOC.** Boceprevir

**TVR.** Telaprevir

**SOF.** Sofosbuvir

**LED.** Ledipasvir

**GZP.** Grazoprevir

**ELB.** Elbasvir

**GLE.** Glecaprevir

**PIB.** Pibrentasvir

**VEL.** Velpatasvir

**VOX.** Voxilaprevir

**Kg.** Kilogramos

**HTPCS.** Hipertensión portal clínicamente significativa

**VVEE.** Varices esofágicas

**HV.** Hemorragia varicosa

**ACLF.** *Acute on Chronic Liver Failure*

**MAFLD.** *Metabolic Associated Fatty Liver Disease*

**APRI.** *Aminotransferase Platelet Ratio Index*

**c-ACLD.** *Compensated Advanced Chronic Liver Disease*

**IMC.** Índice de masa corporal

**PNI.** Pruebas no invasivas de fibrosis hepática

**GPVH.** Gradiente de presión venosa hepática

# ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>RESUMEN</b> .....	<b>9</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>12</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>15</b>
1. Epidemiología y aspectos generales del virus de la hepatitis C.....	15
2. Enfermedad hepática por VHC.....	18
3. Evolución del tratamiento antiviral. ....	20
4. Impacto de la RVS en la historia natural de la enfermedad hepática. ....	24
5. Factores que favorecen la carcinogénesis en pacientes con VHC.....	26
5.1 Desarrollo de fibrosis hepática:.....	26
5.2 Cambios epigenéticos durante la infección por VHC: .....	27
5.3 Inflamación y hepatocarcinoma: .....	28
6. Reversibilidad de la fibrosis tras la respuesta viral sostenida.....	29
7. Evaluación de la fibrosis hepática y cirrosis tras la RVS. ....	32
8. Cribado de hepatocarcinoma tras la respuesta viral sostenida .....	33
9. Predicción del riesgo de hepatocarcinoma tras la respuesta viral sostenida.....	35
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>38</b>
<b>HIPÓTESIS</b> .....	<b>40</b>
<b>OBJETIVOS GENERAL Y ESPECÍFICOS:</b> .....	<b>40</b>
Objetivo general: .....	40
Objetivos secundarios: .....	40
<b>PACIENTES Y MÉTODOS</b> .....	<b>41</b>
1. Selección de pacientes: .....	41
1.1 Criterios de inclusión: .....	41
1.2 Criterios de exclusión:.....	42
2. Cálculo del tamaño muestral: .....	42
3. Evaluación clínica y procedimientos del estudio.....	43
4. Análisis estadístico. ....	45
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>48</b>
Características basales de la población .....	49
Eventos durante el seguimiento .....	50
Cambios dinámicos de los test no invasivos tras la RVS.....	51
Variables predictivas del riesgo de aparición de CHC .....	53
- Análisis univariante: .....	53
- Análisis multivariante:.....	54
EVALUACION DE LA CAPACIDAD PRONÓSTICA DEL MODELO A .....	57
EVALUACION DE LA CAPACIDAD PRONÓSTICA DEL MODELO B .....	59

<b>Análisis de la capacidad predictiva a lo largo del tiempo .....</b>	<b>60</b>
<b>Confirmación de la capacidad predictiva a largo plazo de los modelos .....</b>	<b>62</b>
<b><i>DISCUSIÓN .....</i></b>	<b><i>67</i></b>
<b><i>CONCLUSIONES .....</i></b>	<b><i>81</i></b>
<b><i>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</i></b>	<b><i>82</i></b>
<b><i>APÉNDICE 1.....</i></b>	<b><i>93</i></b>



## **RESUMEN:**

**Introducción:** La infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC) es la causa más frecuente de enfermedad hepática en el mundo<sup>1</sup>. El riesgo de desarrollo de carcinoma hepatocelular (CHC) en los pacientes con infección crónica por VHC y fibrosis avanzada o cirrosis hepática disminuye pero no desaparece tras la respuesta viral sostenida<sup>2-5</sup> por lo que las guías clínicas recomiendan mantener el cribado de CHC en esta población de forma indefinida<sup>6,7</sup>. Los modelos de simulación de incidencia de CHC, estiman un aumento progresivo de la incidencia de CHC hasta 2031 en el grupo de pacientes curados gracias a las estrategias de cribado de infección y microeliminación. Considerando que muchos de los nuevos diagnósticos de infección por VHC se realizan en fase de fibrosis avanzada o de cirrosis, se estima un incremento de más del 60% en la proporción de pacientes que deberían someterse a las estrategias de cribado de CHC tras la RVS<sup>8</sup>. Los programas de vigilancia epidemiológica deben ser coste-efectivos, sobre todo si se mantienen de por vida. En el caso del cáncer hepático las guías recomiendan mantener el cribado si el riesgo es superior al 1.5% anual, como tienen los pacientes con cirrosis establecida<sup>9,10</sup>. Sin embargo, no hay consenso sobre la necesidad de mantener el seguimiento de forma indefinida en todos los pacientes con fibrosis avanzada (F3) tras la RVS tal como se recomienda en la actualidad. Dado que el riesgo de CHC es variable, el reto es identificar a aquellos pacientes que presentan mayor riesgo para su desarrollo durante el seguimiento. El propósito de este estudio es determinar la capacidad de los marcadores no invasivos de fibrosis hepática y de otros factores clínicos basales y dinámicos en la predicción del riesgo de CHC tras la RVS en pacientes con fibrosis hepática avanzada; se pretende así identificar a aquellos que mantienen un riesgo elevado de CHC y por tanto deben continuar con programas de vigilancia ecográfica y clínica.

**Métodos:** Estudio observacional y ambispectivo realizado en una cohorte de pacientes con hepatitis crónica VHC con fibrosis avanzada (estadio F3 de fibrosis mediante Fibroscan) o cirrosis que obtuvieron RVS tras recibir tratamiento con agentes antivirales de acción directa en 8 hospitales de la Comunidad de Madrid desde enero de 2015 hasta diciembre de 2017. Se seleccionaron las variables asociadas a la aparición de CHC mediante análisis univariante y multivariante

utilizando el análisis de riesgos proporcionales ajustado de Cox. Posteriormente se construyeron dos modelos predictivos de acuerdo con el índice de riesgo (Hazard Ratio) de las variables predictivas y se evaluó el riesgo de CHC mediante el análisis de curvas de supervivencia de Kaplan-Meier comparadas mediante el log Rank test.

**Resultados:** Se incluyeron un total de 993 pacientes con una edad media de 61,7 (26-88) años (55,5% fueron hombres). La rigidez hepática media (DE) basal fue de 19kPa (10,7) kPa y el FIB-4 (DE) basal de 4,14 (3,83). El 40,5% de los pacientes presentaban signos endoscópicos y/o radiológicos de HTP. Durante una mediana de seguimiento de 45 meses (rango 13-53 meses), se comunicaron 43 eventos (4,3%), de los cuales 7 fueron descompensación edemoascítica (0,7%), 1 paciente presentó hemorragia varicosa (0,1%) y 35 desarrollaron CHC (3,9%). La probabilidad de desarrollar CHC fue de 1,4%, 2,2% y 4,1% a los 12, 24 y 36 meses de seguimiento. En el análisis multivariante se identificaron la albúmina basal, el valor de rigidez hepática (kPa) basal, el FIB-4 y el porcentaje de descenso de la rigidez hepática al año del tratamiento (Delta Fibroscan 1 año) como factores de riesgo independientes para el desarrollo de CHC. Para generalizar la capacidad predictiva de las variables independientes se construyeron dos modelos, el primer modelo (modelo A) incluyó el valor basal de la albúmina, el fibroscan basal y su reducción al año post tratamiento (Delta Fibroscan). El segundo modelo (modelo B) incluyó el FIB-4 basal y al año post tratamiento, la albúmina basal y la GGT al año post tratamiento. Aplicando el modelo A la incidencia acumulada fue de 0%, 2,1%, 5,8% y 16,3% a los 3 años de seguimiento para los pacientes con score 0 (muy bajo riesgo), 1 (bajo riesgo), 2 (riesgo intermedio) y 3 (alto riesgo) respectivamente (Log Rank <0,001). Según el modelo B la incidencia acumulada fue de 0,4%, 1,7%, 6,5% y 19% para los pacientes con score 0 (muy bajo riesgo), 1-2 (bajo riesgo), 3-4 (riesgo intermedio) y 5-6 (alto riesgo) respectivamente (Log Rank <0,001). En agosto de 2021 se actualizó el seguimiento en 535 pacientes de la cohorte global (53,8%). Ambos modelos mantuvieron su capacidad predictiva de riesgo de CHC tras una mediana de seguimiento de 54 (rango) meses. La incidencia acumulada a los 5 años con el modelo A fue de 2,2, 7,3%, 15,1 y 30% para los pacientes con score 0, 1, 2 y 3 respectivamente (Long Rank <0,001). Con el modelo B la incidencia acumulada a los 5 años fue de 2,1%, 7,5%, 16,3 % y 32,1% para los

pacientes con score 0 (muy bajo riesgo), 1-2 (bajo riesgo), 3-4 (riesgo intermedio) y 5-6 (alto riesgo) respectivamente (log Rank <0,001). La incidencia anual de CHC en los grupos de muy bajo riesgo en ambos modelos fue inferior a 0.5 por 100 pacientes/año.

**Conclusiones:** Los resultados de este estudio demuestran que la aplicación de dos modelos simples en los que se incluye una combinación de marcadores no invasivos basales y dinámicos de fibrosis hepática puede ayudar a estimar el riesgo de CHC tras la RVS en pacientes con fibrosis avanzada o cirrosis asociada a VHC e identificar un subgrupo de pacientes con muy bajo riesgo de CHC y que por tanto podrían ser excluidos de los programas de cribado.

## **SUMMARY:**

**Introduction:** Hepatitis C virus (HCV) chronic infection is a leading cause of liver-related morbidity and mortality worldwide. After sustained virological response (SVR) the risk of developing hepatocellular carcinoma is not completely eliminated in patients with established cirrhosis or advanced fibrosis, so lifelong surveillance is recommended. The simulation model projected that the annual incidence of HCC among patients with virologically cured HCV will continue increasing to 2031 because universal screening and microelimination strategies. Considering that many of the new diagnoses of HCV infection are made in patients with advanced fibrosis or liver cirrhosis, the number of candidates for HCC surveillance in the population with sustained virological response is projected to increase to more than 60% in the proportion of patients who undergo HCC screening strategies after SVR. A cancer surveillance program should be cost-effective, even more, when it is lifelong required. HCC surveillance is considered cost-effective in patients with established cirrhosis in whom annual incidence is higher than 1,5%. However, HCC screening in all patients with advanced fibrosis (F3) after SVR is controversial and scientific societies need more evidence to maintain or reject current recommendations. Since the risk of HCC is variable among these patients, the challenge is identifying those at high-risk for developing HCC during follow up. The purpose of this study is to determine the ability of non-invasive liver fibrosis markers and other baseline and dynamic clinical factor in predicting HCC after SVR in patients with advanced fibrosis to identify those at high risk of HCC who should continue to undergo surveillance.

**Methods:** This is an ambispective, observational study of a cohort of HCV patients with advanced fibrosis (fibrosis stage F3) or liver cirrhosis who achieved SVR after treatment with direct-acting antiviral agents at 8 hospitals in the Community of Madrid from January 2015 to December 2017. The variables associated with the appearance of HCC were selected by univariate and multivariate analysis using the Cox adjusted proportional hazards analysis. Subsequently, two predictive models were built according to the risk index (Hazard Ratio) of the predictive variables and the risk of HCC was evaluated using the Kaplan-Meir survival curves and the log-Rank test.

**Results:** We included 993 patients who had of mean of age 61.7 (26-88) years old and 55.5% were men. The mean baseline liver elastography was 19kPa (SD=10.7kPa), the baseline FIB-4 was 4.14 (SD=3.83) and 40.5% had endoscopic and/or radiologic PHT. During a median follow up of 45 months (13-53 months), 43 events (4.3%) were reported: 7 ascitic decompensation (0.7%), 1 patient presented variceal bleeding (0.1%) and 35 developed HCC (3.9%). The probability of HCC was 1.4%, 2.2%, and 4.1% at 12, 24 and 36 months of follow up. In multivariable analysis, baseline albumin, baseline liver stiffness value (kPa), FIB-4 and decrease in liver stiffness one year after treatment (Delta Fibroscan) were identified as independent risk factor for HCC development. To maximize the predictive capacity of the variables independently associated with the event and to simplify their clinical application, we constructed two different models. The first model (model A) included baseline albumin, baseline fibroscan, and Delta fibroscan 1 year after EOT. The second model (model B) included baseline albumin and FIB-4 score as well as 1-year FIB-4 score and GGT. Applying model A, the cumulative incidence was 0%, 2.1%, 5.8% and 16.3% at 3 years of follow-up for patients with score 0 (very low risk), 1 (low risk), 2 (intermediate risk) and 3 (high risk) respectively (Log Rank <0.001). According to model B, the cumulative incidence was 0.4%, 1.7%, 6.5% and 19% for patients with score 0 (very low risk), 1-2 (low risk), 3-4 (intermediate risk) and 5-6 (high risk) respectively (Log Rank <0.001). In August 2021, follow-up was updated in 535 patients of the global cohort (53.8%), and during 54 months of follow-up, both models maintained their predictive capacity for HCC risk. The cumulative incidence at 5 years with model A was 2.2, 7.3%, 15.1 and 30% for patients with score 0, 1, 2 and 3 respectively (Long Rank <0.001). With model B, the cumulative incidence at 5 years was 2.1%, 7.5%, 16.3% and 32.1% for patients with score 0 (very low risk), 1-2 (low risk), 3-4 (intermediate risk) and 5-6 (high risk) respectively (log Rank <0.001). The annual incidence of HCC in the very low-risk groups was <0.5 per 100 patient-years.

**Conclusions:** The results of this study show that simple risk models based on baseline and dynamic markers of liver fibrosis may help to estimate the risk of HCC after SVR in patients with HCV related advanced fibrosis or liver cirrhosis and

identify a subgroup of patients with a very low risk of HCC in whom surveillance may be not recommended.

## INTRODUCCIÓN

### 1. Epidemiología y aspectos generales del virus de la hepatitis C.

La infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC) es la causa más importante de enfermedad hepática en el mundo<sup>1</sup>. En el año 2015 la OMS estimó que 71 millones de personas estaban infectadas por el VHC, y que la mortalidad asociada a la infección aumentaba, mientras que las muertes por tuberculosis se estabilizaban y las asociadas a VIH disminuían progresivamente. Aproximadamente 399.000 personas infectadas por el VHC fallecieron en 2016 por complicaciones de la cirrosis o por carcinoma hepatocelular (CHC)<sup>11,12</sup>.

El virus de la hepatitis C es un virus ARN de cadena sencilla, con nucleocápside icosaédrica y envoltura, perteneciente a la familia de los Flaviviridae. El virus consta de 3 proteínas estructurales (core, E1 y E2) y 7 proteínas no estructurales (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B). Estas proteínas tienen diferentes funciones en su ciclo de vida <sup>13,14</sup>.

La proteína del core constituye la nucleocápside viral; E1 y E2 son glicoproteínas que forman la envoltura funcional que facilita la entrada del virus a la célula hospedadora e induce la neutralización de los anticuerpos y su proliferación. Las proteínas no estructurales (NS) son necesarias para la constitución del complejo de replicación, ensamblaje y liberación de las partículas infecciosas y propagación viral. El VHC ha desarrollado numerosas estrategias para evadir el sistema inmune del huésped, retrasando y reduciendo tanto la respuesta inmune innata como la adaptativa <sup>15</sup>. Estas determinantes inmunológicas explican, al menos de forma parcial, desde la persistencia de la infección, en la mayor parte de los casos sin producir síntomas, hasta la aparición de complicaciones relacionadas con el desarrollo de cirrosis y hepatocarcinoma.

La transmisión de la hepatitis C ocurre principalmente por vía parenteral. El uso de drogas por esta vía, la transfusión de hemoderivados contaminados y la reutilización de material quirúrgico han sido las principales vías de transmisión

del VHC en el siglo XX<sup>16,17</sup>. Sin embargo, la transmisión del VHC es un proceso dinámico que ha estado sujeto a diferentes cambios en las últimas décadas.

Históricamente, desde la identificación del virus en 1989<sup>18,19</sup>, la prevalencia de la infección fue aumentando de forma progresiva en todos los países, hasta la adopción de medidas preventivas para la infección por el VIH entre los usuarios de drogas por vía parenteral (UDVP) y el control de hemoderivados en 1992<sup>20</sup>.

Los modelos de prevalencia, sin embargo, han cambiado en los últimos años. De forma global, los pacientes con infección activa por VHC han ido disminuyendo progresivamente desde el año 2007, aunque existe una alta variabilidad entre regiones. Por ejemplo, se ha estimado que en algunas regiones ha habido un incremento de más del 10% desde el año 2007, debido a la migración de mano de obra desde países con infección endémica (Catar y Emiratos Árabes), infecciones iatrogénicas (Azerbaiyán, India, Iraq, Siria y Uzbekistán) e infecciones de personas usuarias de drogas por vía parenteral, provenientes principalmente de Irán, Rusia y Letonia. También se ha comunicado un aumento en el número de reinfecciones en hombres coinfectados con VIH, que tienen sexo con otros hombres (HSH) y que habían sido tratados de forma eficaz contra el VHC previamente <sup>11</sup>. En el resto de los países, hubo mayor mortalidad (de causa hepática y no hepática) que aparición de nuevos casos, lo que supone, por tanto, una menor prevalencia de pacientes infectados <sup>12,21</sup>.

El VHC se caracteriza por tener una alta variabilidad genética clasificándose en 7 genotipos (1 - 7) (con una diferencia genética entre los mismos de al menos un 30%) y en al menos 67 subtipos (con una divergencia en la secuencia de al menos un 20%) <sup>22</sup>. La identificación de los diferentes genotipos y subtipos fue un paso crucial para la definición del modelo epidemiológico y para comprender la diferente efectividad del tratamiento <sup>22,23</sup>. La distribución global de los genotipos presenta importantes diferencias geográficas, reflejando los diferentes mecanismos de transmisión por regiones y otros factores como los movimientos migratorios y la expansión de las estrategias de cribado.



El genotipo 1 está distribuido en todo el mundo y es responsable de la mayoría de los casos en América, Europa, Australia y Japón; el subtipo 1b es más común en Europa y Asia, mientras que el subtipo 1a está distribuido ampliamente en el norte de Europa y en Estados Unidos (EE. UU.). El genotipo 2 es más prevalente en países industrializados de Sudamérica y Asia, particularmente en Japón y China, donde el subtipo 2a es comúnmente identificado; el genotipo 2b está ampliamente distribuido en el norte de Europa y EE. UU.; el genotipo 2c es el subtipo más común en Occidente y en el sur de Europa, Pakistán e India. El genotipo 3, en particular el 3a, es prevalente en Europa y EE. UU., Australia y en el sur de Asia. Estudios más recientes indican un aumento de la prevalencia del genotipo 3 y un descenso del genotipo 1b y 2, probablemente por reducción de las infecciones iatrogénicas y aumento del uso de drogas por vía parenteral, especialmente en el este y sur de Europa<sup>12</sup>.

Los genotipos 4-7 están circunscritos a distintas áreas o países. Los genotipos 4 y 5 se identifican con mayor frecuencia en África y Medio Oriente: el genotipo 4a es prevalente en Egipto, mientras que el 4c es altamente prevalente en África Central; el genotipo 5 se aísla mayoritariamente en el sur de África. El genotipo 6 y sus numerosos subtipos se encuentran distribuidos sobre todo en el Sudeste asiático, en países como Tailandia, Vietnam y Myanmar <sup>12,24</sup>.

Una vez ocurre la infección por VHC, la hepatitis aguda con ictericia aparece en aproximadamente un 20% de los casos; sin embargo, en la mayoría de los pacientes la infección aguda se produce de forma asintomática. La aparición de hepatitis aguda fulminante es muy rara, siendo inferior al 1% de los casos. La resolución espontánea de la infección ocurre en alrededor del 15-25% de los casos, pudiendo alcanzar hasta un 45% en personas que desarrollan hepatitis aguda con ictericia (bilirrubina >6 mg/dL), niños y mujeres jóvenes (<35 años). La resolución de la infección aguda suele ocurrir en los primeros 3-4 meses de la infección, pero es poco probable que se produzca a partir del sexto mes<sup>25,26</sup>.

La hepatitis crónica se define como la persistencia del ARN del VHC en sangre durante más de 6 meses desde el inicio de la infección aguda. La proporción de

pacientes en los que se cronifica la infección oscila entre un 50 y un 90% de los casos. La edad superior a 38 años en el momento de la infección, el sexo masculino y el abuso de alcohol se han descrito como factores de riesgo de cronicidad<sup>26-28</sup>.

## **2. Enfermedad hepática por VHC**

La historia natural de la infección por el VHC no se conoce con precisión al ser una enfermedad muy lentamente progresiva; además, la mayoría de los estudios relacionados con la historia natural de la hepatitis C crónica incluyen poblaciones muy heterogéneas en las que pueden aparecer otros factores capaces de influir en la progresión de la fibrosis hepática. En general, la hepatitis C crónica se caracteriza por la presencia de inflamación hepática crónica persistente que conlleva el riesgo de desarrollo de cirrosis en aproximadamente 10-20% de los pacientes tras 20-30 años de infección. Por otro lado, un tercio de los pacientes no desarrollan enfermedad hepática significativa en un plazo de hasta 50 años. Una vez establecida la cirrosis la progresión de la enfermedad hepática es variable, pudiendo ser una enfermedad indolente durante muchos años en algunos pacientes, mientras que otros progresan hasta el desarrollo de carcinoma hepatocelular (CHC), cirrosis descompensada y muerte. En la fase de compensación, el elemento esencial que determina la progresión de la enfermedad es la gravedad de la hipertensión portal. Una vez establecida la cirrosis, el riesgo anual de desarrollar CHC y descompensación de la cirrosis es del 1-5% y del 3-6% respectivamente. Después del primer episodio de descompensación el riesgo de muerte en el siguiente año se sitúa entre 15-20%<sup>29</sup>.

En estudios retrospectivos la proporción de cirrosis se encuentra entre el 17-55% en un periodo entre 20 y 30 años, la de CHC entre el 1-23%/anual y la de muertes de causa hepática entre el 2-3%/anual<sup>30-33</sup>. Los estudios prospectivos sugieren que la probabilidad de desarrollar cirrosis es del 2-10% a los 20 años. Sin embargo, los periodos cortos de seguimiento y la inclusión mayoritaria de mujeres jóvenes en muchos de ellos, puede infraestimar la probabilidad de progresión<sup>34</sup>.

Se ha demostrado que en la velocidad de progresión de la fibrosis hepática intervienen diferentes factores, entre ellos la edad en el momento de la infección,

el sexo masculino, el consumo de alcohol superior a 50g/día, la obesidad, la resistencia a la insulina (RI), la diabetes tipo 2, la coinfección con el VHB o VIH, el tratamiento inmunosupresor e incluso factores genéticos del hospedador. La reversibilidad de alguno de estos factores puede modificar el intervalo necesario para la aparición y progresión de la fibrosis hepática, demostrando de esta forma que la progresión de la lesión hepática es un proceso dinámico y no necesariamente lineal <sup>35</sup>.

La velocidad de progresión de la fibrosis se incrementa de forma significativa con la edad, sugiriendo algunos estudios que la progresión puede ser 300 veces más rápida en pacientes en la 7ª década de la vida, en comparación con la observada en pacientes que se infectan en la 3ª década de la vida; este dato puede estar relacionado con una mayor susceptibilidad al daño hepático y con una menor capacidad de regeneración hepática en pacientes añosos. El sexo masculino incrementa hasta 10 veces la velocidad de progresión de la lesión hepática, independientemente de la edad<sup>36</sup>. Por el contrario, las mujeres tienen una mayor proporción de aclaramiento viral y de resolución espontánea de la infección. La esteatosis se asocia con una mayor actividad inflamatoria y fibrosis así como con una mayor incidencia de CHC <sup>37,38</sup>.

Igualmente, la diabetes y la resistencia a la insulina conllevan una mayor progresión de la fibrosis, con un incremento del riesgo de desarrollar cirrosis y de CHC. En estudios realizados en pacientes con cirrosis, la presencia de DM fue un factor de riesgo independiente de descompensación, trasplante hepático y muerte. A su vez, la erradicación del VHC se ha asociado a una mejoría o incluso reversión de la resistencia a la insulina y de la diabetes <sup>39,40</sup>.

Aunque algunos factores virales como el genotipo, la carga viral y la evolución y extensión de las cuasi especies, no parecen influir en la velocidad de progresión de la fibrosis, diversos estudios sugieren que estas últimas pueden favorecer el aclaramiento viral espontáneo. Así, la baja diversidad genética de las proteínas estructurales se asocia con una alta probabilidad de resolución espontánea de la infección aguda por VHC <sup>41</sup>. La asociación entre los genotipos del VHC y la progresión de la enfermedad no está clara. Es posible que la esteatosis relacionada

con el genotipo 3, que es un predictor independiente de progresión de la fibrosis, justifique una mayor incidencia de cirrosis hepática y CHC en este grupo de pacientes <sup>42-45</sup>.

Por otro lado, existen subgrupos de pacientes con una progresión más lenta de la fibrosis, como los infectados por transmisión vertical o neonatal, hemofílicos, pacientes en hemodiálisis o mujeres infectadas con globulina anti-D contaminada <sup>34,46,47</sup>.

La elevación persistente de las transaminasas y el grado de actividad inflamatoria hepática se asocian a mayor riesgo de progresión. Sin embargo, hay que destacar que una tercera parte de los pacientes con transaminasas persistentemente normales, pueden presentar fibrosis estadio 2 o mayor. Además, algunos pacientes sin fibrosis y con niveles fluctuantes de transaminasas por encima del valor normal pueden desarrollar cirrosis a los 10-15 años en un 5-10% de los casos y en más del 30% de los que presentan fibrosis estadio 1 en la biopsia basal <sup>48</sup>.

Por tanto, la evolución de la enfermedad hepática es muy variable y el desarrollo de cirrosis a los 20-30 años oscila entre 2 y el 20% según los diferentes estudios. Sin embargo, la tasa de progresión más aceptada es del 15-20% en 20-30 años; una vez instaurada la cirrosis el riesgo de descompensación es del 2%/año, y el de hepatocarcinoma, en estudios prospectivos, oscila entre 0,7 y el 1,3%/año y en estudios retrospectivos del 1 al 23%/año en la población con infección no curada <sup>26,49-51</sup>.

### **3. Evolución del tratamiento antiviral.**

El tratamiento antiviral ha tenido una rápida evolución desde el descubrimiento del virus en 1989 y la introducción del interferón (INF) al principio de la década de los 90 hasta la fecha. La terapia con INF data desde 1986 cuando Hoofnagle y colaboradores <sup>52</sup>, comunicaron la normalización de los niveles de ALT tras la administración de INFa recombinante en pacientes con hepatitis no A- no B; en otras palabras, el INF mostró ser un agente antiinflamatorio, al producir una respuesta bioquímica antes del descubrimiento del virus de la hepatitis C.

Después de la introducción de métodos para la identificación del virus, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), diferentes estudios informaron de casos de pacientes con ARN de VHC indetectable mediante PCR tras la administración de INF<sup>53</sup>. La normalización de ALT se asoció con la erradicación viral, con excepción de algunos casos. El descubrimiento de este efecto bioquímico y virológico promovió la aprobación del uso del INF para el tratamiento del VHC en EE. UU. y Europa en 1991.

La ribavirina (RBV), desarrollada en 1972, es un análogo sintético de ácido nucleico, que tiene actividad *in vitro* frente a una amplia variedad de virus ARN y ADN, y se administra de forma oral. Su administración en monoterapia contra el VHC no ha sido probada; sin embargo, en 1998 se comunicó que su combinación con INF incrementaba la probabilidad de obtener RVS comparado con el uso de INF en monoterapia <sup>54-56</sup>. Estos resultados fueron reproducidos a gran escala en Europa y EE. UU., demostrando que la combinación de PEG-INF y RBV, arrojaba mejores resultados que el tratamiento con interferón convencional más ribavirina <sup>57,58</sup>.

El revolucionario progreso del tratamiento con interferón fue sellado con el desarrollo del interferón pegilado (PEG-INF) y su introducción en la práctica clínica. La pegilación es un proceso de modificación de un fármaco mediante la adición de un polímero artificial (polietilenglicol o PEG), con la finalidad de retrasar su eliminación, disminuir su antigenicidad y modificar o potenciar el efecto del fármaco. El efecto más beneficioso de PEG-INF es el retraso de su eliminación, haciendo posible el mantenimiento de concentraciones estables en sangre, lo que permite su administración una vez por semana. Esta nueva posología, aumentó de forma significativa la cumplimentación del tratamiento y su tolerabilidad, mejorando la proporción de RVS.

La terapia con PEG-INF y ribavirina (PEG-INF/RBV), fue el tratamiento antiviral estándar durante más de una década para los pacientes con infección crónica por el virus de la hepatitis C. Inicialmente la combinación de PEG-INF/RBV durante 48 semanas, fue administrada en pacientes con peor respuesta terapéutica (genotipo

1 y alta carga viral) logrando RVS en aproximadamente el 40-50% de los casos. En pacientes con infección por VHC causada por los genotipos 2 y 3, los ensayos de registro demostraron que se alcanzaba RVS más frecuentemente (76% y 82% de los casos con tratamientos de 24 semanas). La eficacia de esta combinación en pacientes con genotipo 4 fue del 43% al 70% con la pauta de tratamiento de 48 semanas, algo superior a la observada en pacientes con genotipo 1<sup>59</sup>.

El mejor conocimiento de la biología molecular del VHC abrió la puerta al desarrollo de los primeros agentes antivirales de acción directa<sup>60</sup>. En 2011 se autorizó en Europa el uso de telaprevir (TVR) y boceprevir (BOC) para la infección por genotipo 1. Estos dos fármacos son antivirales de acción directa (AAD) de primera generación, cuya acción va dirigida a la serina proteasa NS3/4A del VHC. Tanto TVR como BOC debían administrarse en combinación con PEG-IFN/RBV. Estas pautas de terapia triple resultaron eficaces en pacientes que no habían recibido tratamiento previo y en pacientes tratados previamente, incluidos los pacientes sin ninguna respuesta previa a la terapia doble de PEG-IFN/ RBV.

En los pacientes *naïve* o no tratados previamente, la proporción global de RVS según los estudios de registro osciló entre un 60% y 70%, aumentando hasta un 80-90% en los pacientes con respuesta virológica rápida (ARN indetectable en la semana 4). En los pacientes con fallo al tratamiento previo con PEGINF/RBV o INF-a no pegilado y RBV, la proporción de RVS con triple terapia osciló desde el 29% al 88%, según el tipo de respuesta previa y el grado de hepatopatía, siendo menor en los pacientes con fibrosis avanzada o cirrosis compensada <sup>59</sup>. En España, estas pautas permitieron curar a una proporción de pacientes con fibrosis avanzada y cirrosis compensada, aunque con efectos adversos no desdeñables<sup>61</sup>.

Durante el año 2014 se aprobaron en la Unión Europea (UE) tres nuevos AAD para usarlos en combinación en la infección por VHC: Sofosbuvir, un análogo de nucleótido pangenotípico inhibidor de la polimerasa de ARN, aprobado en enero de 2014; Simeprevir, inhibidor de la proteasa NS3-4A de primera generación, activo frente a los genotipos 1 y 4 aprobado en mayo de 2014; y Daclatasvir, un inhibidor pangenotípico de la NS5A, aprobado en agosto de 2014. Todos ellos se

aprobaron para usarse como componente de un régimen triple en combinación con PEGIFN- $\alpha$  y ribavirina, obteniendo RVS en el 60-100% dependiendo del AAD utilizado, el genotipo del VHC, la presencia de mutaciones preexistentes que conferían resistencia al AAD usado y la gravedad de la enfermedad hepática. Aunque estas combinaciones se toleraron mejor que la triple combinación con telaprevir o boceprevir, el perfil de efectos secundarios y su manejo seguía siendo un reto por la necesidad de asociarse a PegIFN- $\alpha$  y ribavirina.

Con los tres nuevos AAD aprobados, se inició una nueva era en el tratamiento de la hepatitis C, por la posibilidad de utilizar combinaciones libres de interferón con resultados de eficacia y seguridad extraordinariamente favorables. La combinación de sofosbuvir y ribavirina estaba indicada en pacientes infectados por VHC genotipo 2 (12 semanas) o 3 (24 semanas), alcanzando RVS en torno al 80-95%. Las combinaciones libres de IFN con sofosbuvir y simeprevir asociado o no a ribavirina fueron utilizadas en pacientes infectados con el genotipo 1 alcanzando RVS en el 93-100% de los casos. La combinación de sofosbuvir y daclatasvir, con o sin ribavirina fue también ampliamente utilizada en pacientes con enfermedad hepática avanzada en Europa, obteniéndose RVS en un 95-100%. Esta combinación fue bien tolerada durante el transcurso de la terapia tanto en los ensayos clínicos como en vida real <sup>62</sup>.

La puesta en marcha del Plan Estratégico Nacional en abril de 2015 supuso un cambio drástico en el tratamiento de los pacientes con infección crónica por VHC en nuestro país. En este año se aprobó en la UE la combinación de fármacos AAD de segunda generación con diferentes dianas terapéuticas como sofosbuvir/ledipasvir (SOF/LED), la cuádruple terapia que incluía ombitasvir/paritaprevir/ritonavir y dasabuvir (3D)<sup>62</sup> y posteriormente la combinación de grazoprevir/elbasvir (GZP/ELB)<sup>63</sup>. Estos regímenes se utilizaban sin necesidad de añadir PEGINF e incluso sin RBV, consiguiendo RVS superiores al 90% en la mayoría de los pacientes, incluyendo pacientes cirróticos descompensados, que hasta entonces tenían una marcada limitación para poder recibir tratamiento.

Finalmente, en el año 2017 se aprobaron en España las primeras combinaciones pangenotípicas: sofosbuvir asociado a velpatasvir (SOF/VEL), sofosbuvir/velpatasvir/voxilaprevir (SOF/VEL/VOX) y glecaprevir/pibrentasvir (GLE/PIB). Con estos regímenes se alcanzan porcentajes de RVS del 96% al 100% independientemente del genotipo, del estadio de la enfermedad hepática y de la presencia de comorbilidades; sin embargo, las combinaciones GLE/PIB y SOF/VEL/VOX no se recomiendan en pacientes con cirrosis descompensada al contener un inhibidor de la proteasa. El uso de SOF/VEL/VOX está limitado actualmente en España para el tratamiento de rescate en pacientes sin respuesta a otros AAD, consiguiendo en estos pacientes RVS en más del 95% de los casos, independientemente del genotipo y del esquema de tratamiento previamente utilizado. Según los datos de los estudios de registro (POLARIS 1 y 4), no se recomienda la búsqueda sistemática de resistencias basales antes del tratamiento, ya que éstas no impactan de forma significativa en la respuesta viral sostenida en estos pacientes<sup>64</sup>. Con todo ello sólo en aproximadamente 5 años, (hasta agosto de 2020) se habían tratado en España más de 143.000 pacientes utilizando las diferentes combinaciones de fármacos de acción directa<sup>65</sup>, con una incidencia muy baja de fracaso del tratamiento, siendo estos pacientes rescatados con antivirales pangenotípicos de última generación.

En definitiva, la evolución del tratamiento antiviral ha permitido curar en los últimos años a pacientes con enfermedad hepática avanzada y descompensada, disminuyendo la probabilidad de descompensación de la cirrosis, la mortalidad asociada a la hepatopatía y la incidencia de CHC<sup>66-69</sup>.

#### **4. Impacto de la RVS en la historia natural de la enfermedad hepática.**

El impacto de la RVS en la historia natural de la enfermedad, descrita en el apartado anterior, se traduce en la reducción de los eventos clínicos relacionados con la cirrosis, así como la reducción de la mortalidad por cualquier causa como ya se demostró previamente en distintas cohortes de pacientes con enfermedad hepática avanzada tratada con regímenes basados en interferón<sup>70,71</sup>. Esto también ha quedado ampliamente demostrado en pacientes tratados con AAD, como ejemplo de ello un estudio retrospectivo que analiza a 187 pacientes cirróticos



tratados con SOF más un inhibidor de la NS5A (DCV o LDV) demostró la mejoría en la puntuación del MELD en 40%, 45% y 47% respectivamente tras 12, 24 y 48 semanas post tratamiento. Esta mejoría fue más significativa en los pacientes con MELD basal >14 (68% a las 12 semanas, 77% a las 24 semanas y 83% a las 48 semanas post tratamiento)<sup>72</sup>. En otro estudio europeo se incluyeron 409 pacientes con cirrosis descompensada por VHC tratados con AAD, en los que la puntuación MELD tras tratamiento mejoró en una media de -0,85 comparado con el grupo de pacientes no tratados (media de +0,75) ( $p < 0,0001$ )<sup>73</sup>. De forma similar, El-Sherif y col en 2018, publicaron un análisis retrospectivo de 4 ensayos clínicos que evaluó los efectos de las terapias basadas en SOF en pacientes con cirrosis descompensada (502 pacientes Child-Pugh B y 120 Child-Pugh C). De los pacientes que lograron la RVS, tras un seguimiento de 36 semanas, el 31% de los pacientes Child B y el 12% de los Child C, pasaron a un estatus de enfermedad hepática compensada (Child-Pugh A). En este estudio la presencia de ascitis, encefalopatía hepática, albúmina < 3,5g/dL, ALT >60UI/L y IMC >25 Kg/m<sup>2</sup> se asoció con un mayor riesgo de no de pasar a una forma compensada o Child-Pugh A <sup>66</sup>. Uno de los estudios más recientemente publicado es la corte francesa ANRS CO22, que evalúa de forma prospectiva todas las causas de mortalidad en los pacientes tratados con AAD. Se incluyeron 9.985 pacientes de los cuales 7.344 pacientes (74%) recibieron antivirales de acción directa. Otros 2.551 pacientes no recibieron ningún tratamiento, sirviendo como grupo control. Los pacientes en el grupo de AAD fueron más mayores, con enfermedad hepática más avanzada y con mayores comorbilidades que el grupo control. Esta diferencia entre grupos era lo esperado, ya que el tratamiento fue priorizado durante el primer año, a los pacientes más graves una vez aprobado la utilización de los AAD. Durante una media de seguimiento de 33,4 meses (IQR 24 - 40,7 meses) en pacientes tratados y 31,2 meses de seguimiento (IQR 21,5 - 41 meses) en pacientes no tratados, la incidencia de la mortalidad por cualquier causa (HR 0,48, 95% IC: 0,33 - 0,70;  $p < 0,001$ ), la incidencia de CHC (HR 0,66; 0,46 - 0,93) y descompensación de la cirrosis (HR 1,14; 0,57 - 2,27), fue menor en el grupo expuesto a los AAD que alcanzaron la RVS en comparación con el grupo de pacientes no tratados<sup>67</sup>.

De forma similar, tras la respuesta viral sostenida se produce una reducción en el riesgo de CHC, debido a la eliminación de factores patogénicos relacionados directamente con el virus. Sin embargo, otros persisten tras la erradicación viral, sobre todo aquellos relacionados con el estadio de la enfermedad hepática (cirrosis descompensada, trombopenia, hipertensión portal) o con la presencia de comorbilidades como la diabetes, hábitos tóxicos como el consumo de alcohol y tabaco, o la propia edad <sup>74-77</sup>. Una reciente publicación sugiere que la regresión del daño hepático puede ocurrir a lo largo de varios años, con la consecuente persistencia del riesgo de CHC durante este periodo; en otros pacientes la lesión hepática no revierte o incluso progresa por la coexistencia de factores como la obesidad, diabetes o consumo de alcohol <sup>78</sup>.

## **5. Factores que favorecen la carcinogénesis en pacientes con VHC**

### **5.1 Desarrollo de fibrosis hepática:**

La infección crónica por el VHC típicamente produce daño e inflamación en el parénquima hepático, asociado al desarrollo de fibrosis. La fibrogénesis es un proceso dinámico caracterizado por la síntesis de matriz extracelular (MEC), formada por un complejo mixto de glicoproteínas (colágeno, elastina, fibronectina, laminina) y proteoglicanos organizados en una red tridimensional. La fibrosis se caracteriza por el depósito de colágeno y otras proteínas de la MEC, y su organización en complejos polímeros insolubles que induce la alteración de la arquitectura hepática<sup>79</sup>.

En todas las formas de hepatitis crónica, incluyendo la hepatitis crónica por el virus C, la fibrosis se inicia alrededor de las áreas portales (periportal o zona 1) y gradualmente se extiende hacia las venas centrales (zona 3) con formación de septos y puentes fibrosos. El estadio final del desarrollo de fibrosis constituye la cirrosis, en la cual existe fibrosis marcada que se extiende entre las áreas portales y centrales, así como la formación de nódulos de regeneración en el parénquima hepático rodeados a su vez de tractos fibrosos <sup>80</sup>. El colágeno y las proteínas de la matriz que constituyen la fibrosis son producidas por la activación de las células hepáticas estrelladas (CHE), que pasan de estar en una forma quiescente con un fenotipo lipocelular, a una forma activada con fenotipo fibroblástico. En cuanto a la

fibrosis perisinusoidal, la activación de las células estrelladas contribuye a la sobreproducción de los componentes de la membrana basal, que separa el hepatocito de la sangre que fluye a través del sinusoides hepático perturbando el intercambio de nutrientes, proceso conocido como capilarización sinusoidal. Además, las CHE activadas segregan factores vasoactivos que contribuyen a la vasoconstricción y, por lo tanto, al desarrollo de hipertensión portal en la cirrosis<sup>81</sup>.

Está ampliamente demostrado que el grado de fibrosis hepática y el desarrollo de cirrosis es el factor de riesgo más importante en la aparición del carcinoma hepatocelular<sup>82-84</sup>. Estudios clínicos y experimentales han demostrado que la resolución de la fibrosis puede ocurrir una vez eliminado el agente que induce el daño hepático, por lo que la probabilidad de aparición de CHC es menor cuando se interrumpe este proceso de forma precoz<sup>81</sup>.

## 5.2 Cambios epigenéticos durante la infección por VHC:

La cirrosis de cualquier etiología puede complicarse con la aparición de tumores hepáticos, pero el riesgo es mayor en pacientes con hepatopatía crónica de etiología viral<sup>82</sup>. Un estudio publicado en 2018, cuyo objetivo fue comparar el riesgo de CHC según la etiología de la enfermedad hepática, demostró que los pacientes con cirrosis secundaria a infección crónica por VHC tenían 3 veces más riesgo de desarrollar cáncer hepático que los pacientes con cirrosis de origen alcohólico o por enfermedad por depósito de grasa, sugiriendo un posible efecto carcinogénico directo del propio virus<sup>85</sup>.

El virus de la hepatitis C tiene un limitado potencial para su integración en el genoma del huésped, requiriendo una replicación continua para su supervivencia. Diversos estudios sugieren que el VHC puede contribuir directamente a la hepatocarcinogénesis, interrumpiendo las vías de transducción de señales que afectan la supervivencia, proliferación y transformación celular a través de las proteínas o ARN del VHC e indirectamente al inducir inflamación crónica<sup>83-86</sup>.

La regulación epigenética es un proceso indispensable para el desarrollo normal y la conservación de los perfiles de expresión génica específicos del tejido. Por lo tanto, cualquier perturbación epigenética puede conducir a una función génica modificada y a una transformación celular maligna. El epigenoma modificado del CHC se caracteriza por hipermetilación o hipometilación específica de genes, hipometilación genómica global, expresión anormal de metiltransferasas de ADN, enzimas modificadoras de histonas y expresión aberrante de microARN, que pueden afectar la expresión de oncogenes, genes supresores de tumor y otros genes que alteran las vías de desarrollo del cáncer a lo largo del tiempo <sup>87</sup>. De hecho, un estudio reciente demostró una correlación clara y positiva entre los cambios epigenéticos y las etapas de fibrosis en la infección crónica por VHC, que persisten después de la respuesta viral sostenida (RVS) <sup>88</sup>. Todo esto indica que la presencia del virus no es imprescindible para inducir un efecto oncogénico, produciéndose lo que se conoce como memoria o cambios epigenéticos persistentes<sup>89,90</sup>.

### 5.3 Inflamación y hepatocarcinoma:

Otro factor que afecta de forma específica al desarrollo de hepatocarcinoma durante la infección crónica por el VHC es la presencia de inflamación. La inflamación crónica se ha asociado con la aparición de un 15% de los cánceres en humanos<sup>91</sup>. Durante la infección crónica por VHB o VHC, el sistema inmune del huésped no es suficientemente eficaz para eliminar completamente la infección, induciendo una estimulación persistente antígeno-específica. Las células del sistema inmune reconocen y pueden destruir células hepáticas infectadas, liberando diferentes citoquinas y factores de crecimiento con la finalidad de producir una regeneración hepatocitaria compensadora. La persistencia de este ciclo de necroinflamación y regeneración, produce un efecto sinérgico con la gravedad de la fibrosis hepática y cirrosis, promoviendo la distorsión arquitectural y la hipertensión portal, favoreciendo la hipoxia mediante la reducción de la perfusión sinusoidal, e induciendo de esta forma la formación de cortocircuitos intrahepáticos y el desarrollo de neoangiogénesis, que puede ser el sustrato para la formación de tumores hipervasculares como el hepatocarcinoma <sup>92</sup>.

Estas alteraciones incrementan el riesgo de cambios genéticos en el hepatocito, favoreciendo la supervivencia y expansión celular, lo que contribuye al desarrollo y progresión del cáncer hepático. Además, el estrés oxidativo acelera la hepatocarcinogénesis a través de diferentes mecanismos que incluyen la transcripción y activación de citoquinas y factores de crecimiento, el daño oxidativo del ADN, la metilación de ADN y el daño hepático <sup>92-96</sup>.

## **6. Reversibilidad de la fibrosis tras la respuesta viral sostenida**

El objetivo del tratamiento antiviral es eliminar la infección, deteniendo de esta forma la progresión de la enfermedad hepática, el riesgo de descompensación y el desarrollo de complicaciones como el carcinoma hepatocelular, mejorando de esta forma la supervivencia y la calidad de vida de los pacientes. Como se comentó previamente, la efectividad de los nuevos fármacos de acción directa ha supuesto un cambio en la historia natural de la enfermedad hepática al permitir tratar a un mayor número de pacientes, incluso con enfermedad hepática descompensada.

Un meta-análisis publicado en 2015<sup>97</sup>, demostró una reducción absoluta del riesgo de CHC tras la RVS en pacientes con cirrosis hepática (22%; 95% IC 13-31), mayor que en los pacientes en cualquier otro estadio de fibrosis (6.7%; 95% IC 5-8), lo que sugiere que la regresión de la lesión hepática es un mecanismo clave en esta reducción. Actualmente hay suficientes pruebas de que la regresión de la fibrosis hepática, la repoblación hepatocitaria y la remodelación microvascular ocurren tras la RVS a través de diferentes procesos celulares <sup>98,99</sup>. Uno de los mecanismos involucrados en la resolución de la fibrosis hepática es la inactivación o apoptosis de las células estrelladas hepáticas/miofibroblastos mediante la disminución de citoquinas que favorecen la fibrogénesis. Sin embargo, estudios experimentales demostraron que un subconjunto de miofibroblastos puede escapar de la apoptosis durante la regresión de la fibrosis hepática, adquiriendo un fenotipo distinto de las CHE inactivas. Estas células son capaces de reactivarse más rápidamente en miofibroblastos en respuesta a estímulos fibrogénicos, contribuyendo a la reactivación y progresión de la fibrosis hepática<sup>98,100</sup>. No obstante, lo más importante es que la regresión de la enfermedad hepática depende del momento en el que se erradica la infección vírica, siendo más

probable una regresión total en pacientes con fibrosis leve/moderada que en aquellos pacientes con cirrosis establecida.

El “punto de no retorno” en cuanto a la posibilidad de regresión de la fibrosis está relacionado con la extensión y gravedad del daño hepático, momento en el que las alteraciones vasculares y la formación de cortocircuitos intrahepáticos, pueden perpetuar la hipoperfusión del parénquima hepático favoreciendo la inflamación y la fibrosis <sup>101</sup>.

Un estudio canadiense <sup>99</sup> examinó los explantes de pacientes que fueron sometidos a trasplante hepático con cirrosis o con fibrosis avanzada, en los cuales el agente causal de la enfermedad hepática fue eliminado o controlado antes de la cirugía. Los autores de este estudio concluyeron que la regresión de la lesión hepática es posible en cualquier estadio de fibrosis, incluso en pacientes pre-cirróticos o con cirrosis macronodular. Sin embargo, en estadios más avanzados de cirrosis con presencia de septos engrosados y cirrosis micronodular, asociados a la presencia de hipertensión portal clínicamente significativa (HTPCS) la posibilidad de regresión fue mucho menor <sup>102</sup>.

Un estudio italiano en el cual se incluyeron 38 pacientes con cirrosis sometidos a biopsias pareadas tras alcanzar RVS con PEGINF/RBV, demostró que un 61% de los pacientes presentaron regresión de la cirrosis (al menos 1 estadio en la puntuación METAVIR) tras una media de seguimiento de 61 meses. Los pacientes sin cambios en el estadio de fibrosis tras la RVS presentaron, sin embargo, una disminución de la cantidad de fibras colágenas, coincidiendo con la transformación de cirrosis micronodular a una forma macronodular o cirrosis septal incompleta <sup>103</sup>. Un estudio español publicado en 2018 evaluó la regresión de la fibrosis mediante biopsias pareadas en 112 pacientes con recurrencia post trasplante de la infección por VHC, tras tratamiento con AAD. La regresión de la fibrosis ocurrió en 72-85% de los pacientes sin cirrosis hepática (F1-F3) y solo en el 43% de los pacientes con cirrosis (F4). Es interesante resaltar que la regresión al estadio sin fibrosis (F0) ocurrió en el 72% de los pacientes con F1, 39% con F2, 15% con F3 basal, mientras que no hubo ningún caso en los pacientes con estadio 4 de fibrosis basal. El 92% de los pacientes con cirrosis permanecieron en F4 o disminuyeron a

un estadio 3, por lo que la mayoría permaneció con fibrosis avanzada <sup>104</sup>. En este estudio, más de la mitad de los pacientes cirróticos tenían historia de descompensación, lo que apoyaría la teoría del “punto de no retorno” en pacientes con cirrosis y con hipertensión portal y por lo tanto mayor probabilidad de desarrollar CHC tras la RVS<sup>104</sup> (figura 1).

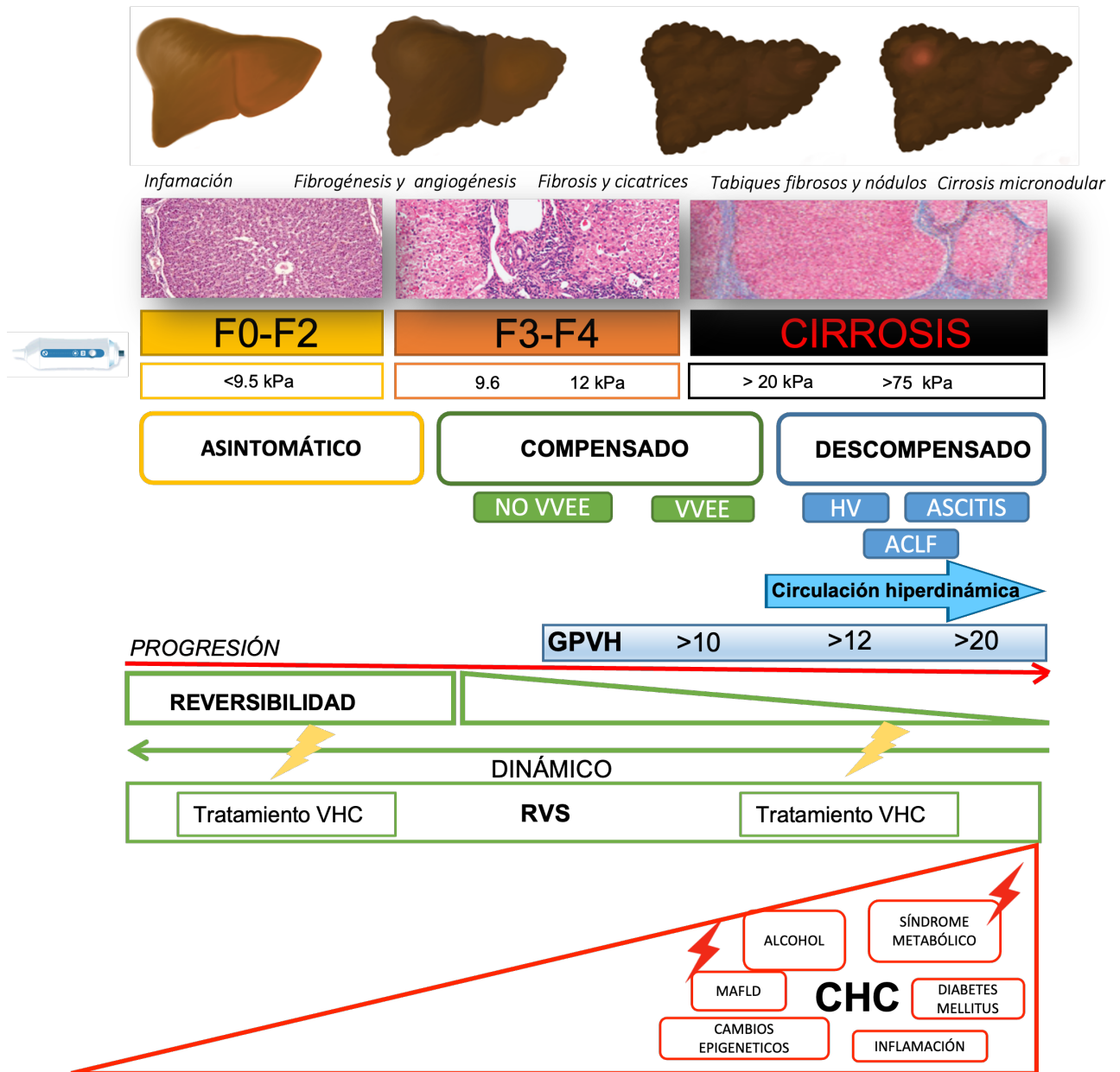


Figura 1. Factores que favorecen el desarrollo de CHC, antes y después de la RVS<sup>105</sup>. VVEE: varices esofágicas; HV: hemorragia varicosa; ACLF: acute on chronic liver failure; GPVH: gradiente de presión venoso hepático; VHC: virus de la hepatitis C; RVS: respuesta viral sostenida; CHC: carcinoma hepatocelular; MAFLD: metabolic associated fatty liver disease.

## **7. Evaluación de la fibrosis hepática y cirrosis tras la RVS.**

Uno de los problemas en la actualidad es como evaluar el estadio de la enfermedad hepática tras la RVS. La biopsia hepática, considerada el patrón oro para la gradación de la fibrosis es un procedimiento invasivo, que puede no distinguir estadios iniciales de cirrosis de formas más avanzadas y que en la era de los antivirales directos ha sido sustituida de forma casi universal por métodos no invasivos como el Fibroscan (FS). Además, su realización de forma repetida tras la RVS supondría no sólo un aumento de los costes y un riesgo de complicaciones para el paciente, sino también la posibilidad de falsos negativos por error de la muestra <sup>106</sup>. Por este motivo, en los últimos años la utilización de métodos no invasivos como el Fibroscan y los marcadores serológicos, han sido ampliamente utilizados para estimar la regresión de la fibrosis tras la erradicación viral <sup>107</sup>.

En diferentes estudios se ha observado una caída marcada tanto de la rigidez hepática como de la estimación de la fibrosis mediante marcadores serológicos tras el tratamiento antiviral, lo que se ha puesto en relación con una rápida mejoría de la necroinflamación tras el aclaramiento viral <sup>108</sup>. En una cohorte de 304 pacientes con genotipo 1 y 3, fibrosis avanzada o cirrosis, tratados con terapias basadas en sofosbuvir (SOF), se demostró que la rigidez hepática basal estimada por Fibroscan, disminuyó de 16.9 kPa a 11.9 kPa en la semana 24 post tratamiento. En este estudio, la RVS fue el único factor asociado de modo independiente con la mejoría de la rigidez hepática <sup>109</sup>.

Sin embargo, la disminución de la rigidez hepática no supone necesariamente la desaparición de la cirrosis en pacientes con enfermedad hepática avanzada compensada, y no se ha demostrado la implicación clínica que ésta pueda tener, ni la fiabilidad del Fibroscan en la predicción de fibrosis en los pacientes con respuesta virológica sostenida. Un estudio publicado por D' Ambrosio et al<sup>110</sup>, muestra que la disminución de la rigidez hepática tras la RVS por debajo de 12 kPa en pacientes con cirrosis hepática no supone regresión de la cirrosis en un 38% de los pacientes. La disminución de la rigidez hepática en estos casos se ha atribuido a los fenómenos de remodelación y regeneración hepática y de reabsorción de la fibrosis.



Recientemente se ha sugerido que un valor inferior a 20 kPa obtenido mediante Fibroscan tras la RVS no permite descartar la presencia de HTPCS <sup>111</sup>. Tampoco está claro en qué momento se debe realizar el Fibroscan post-RVS, ya que los fenómenos de regresión pueden persistir en el tiempo. En este sentido, estudios recientes indican que tras un descenso inicial de la rigidez hepática a las 24 semanas post tratamiento, los cambios posteriores son mínimos, alcanzándose una meseta en la rigidez hepática <sup>112,113</sup>.

La mejoría de la fibrosis estimada por marcadores serológicos también ha sido evaluada en pacientes que consiguen RVS tras tratamiento antiviral. En un estudio observacional multicéntrico realizado en EE. UU., en el que se incluyeron más de 4000 pacientes, se evaluó el impacto de la respuesta viral sostenida tras terapias basadas en interferón, en la fibrosis hepática estimada mediante los índices FIB-4 y APRI (*aminotransferase platelet ratio index*). En los pacientes que lograron RVS, se observó una rápida disminución de dichos índices tras el tratamiento antiviral, siendo el descenso progresivamente más lento tras 10 años de seguimiento <sup>114</sup>. Por este motivo, la combinación del Fibroscan y marcadores serológicos no invasivos, podría ser una buena herramienta para una mejor evaluación de la fibrosis hepática tras la respuesta viral sostenida.

## **8. Cribado de hepatocarcinoma tras la respuesta viral sostenida**

Teniendo en cuenta que la presencia de fibrosis avanzada y de cirrosis es el principal factor de riesgo para el desarrollo de CHC, y que la erradicación viral no elimina este riesgo por completo<sup>77</sup>, las guías clínicas recomiendan mantener revisiones semestrales de forma indefinida para el cribado de CHC en todo paciente con cirrosis, y la mayor parte de ellas también en los pacientes con fibrosis avanzada en el momento de iniciar el tratamiento <sup>6,7</sup>. Por este motivo, la precisión en la evaluación de la fibrosis antes del tratamiento antiviral es una de las claves para la estimación individual del riesgo de CHC. Sin embargo, realizar biopsia hepática de forma sistemática es poco aplicable y tiene sus inconvenientes como se mencionó anteriormente; por otra parte, los métodos no invasivos no siempre evalúan de forma óptima la lesión hepática, con posibilidad de infra- o

sobreestimar la misma, especialmente en pacientes con valores de rigidez hepática entre 10-15 kPa<sup>115</sup>.

Este hecho es especialmente importante en los pacientes con fibrosis avanzada sin cirrosis, en los que el Fibroscan puede sobreestimar la rigidez hepática, especialmente en aquellos con presencia de actividad inflamatoria. Otro problema es la definición de fibrosis avanzada. Tradicionalmente se ha considerado este concepto en aquellos pacientes con fibrosis estadio 3 (F3) o 4 (F4), con puntos de corte desde 9.5kPa hasta 14kPa<sup>116</sup>, o hasta 12.5kPa<sup>117</sup> para diagnosticar un estadio F3, y superiores a estos para referirse a F4 o cirrosis, según los estudios. Debido a la dificultad de diferenciar la transición de la lesión hepática de fibrosis avanzada a cirrosis y su amplia heterogeneidad, una proporción importante de pacientes pueden estar mal clasificados. Este hecho podría conducir al mantenimiento de revisiones indefinidas de forma innecesaria, impactando negativamente en la calidad de vida de los pacientes al generar ansiedad acerca de la posibilidad del diagnóstico de cáncer, o por el contrario dejando de seguir a pacientes con riesgo de desarrollar CHC o retrasando su diagnóstico por generarse mayores listas de espera. Por otra parte, el coste de la realización de revisiones no necesarias no es despreciable. La incorporación del concepto de enfermedad hepática crónica avanzada compensada (c-ACLD en sus siglas en inglés) ha contribuido a una mejor definición de esta fase de la enfermedad, que engloba un amplio espectro de lesión hepática e incorpora el Fibroscan como el método más utilizado en su valoración de forma universal permitiendo usar un lenguaje común<sup>118</sup>.

El cribado de cáncer hepático se realiza con el objetivo de obtener un diagnóstico precoz que permita instaurar tratamientos curativos, logrando de esta forma prolongar la supervivencia de los pacientes con una buena calidad de vida. Las guías recomiendan, en términos de coste-efectividad, mantener la vigilancia de CHC si el riesgo de su desarrollo es superior al 1.5% anual<sup>119</sup>. Sin embargo, el beneficio clínico que ha supuesto la alta proporción de RVS tras la incorporación de las nuevas terapias antivirales y el aumento de la supervivencia con el desarrollo del tratamiento del cáncer hepático, pone en duda cuál es el riesgo de CHC anual que debiera considerarse a la hora de recomendar el cribado indefinido en esta población de pacientes con fibrosis avanzada tras la RVS, y que

posiblemente esté muy por debajo de estas cifras. En este sentido, un estudio sugiere que en los pacientes con estadio F3 o fibrosis avanzada en los que el riesgo de CHC es menor de 1,3%, el cribado no es coste-efectivo, mientras que realizar el seguimiento semestral o anualmente a los pacientes cirróticos, es similar desde el punto de vista de coste-efectividad. Asimismo, los autores sugieren que los pacientes con APRI > 2 o FIB-4 >3.25 presentan un riesgo de CHC en el que la vigilancia sigue siendo coste-efectiva y, por el contrario, aquellos con valor inferior podrían no precisar seguimiento indefinido<sup>120</sup>.

Otro estudio ha evaluado el coste-efectividad del cribado de CHC en pacientes cirróticos según la estratificación del riesgo, combinando variables clínicas y marcadores biológicos basados en el polimorfismo del factor de crecimiento epidérmico, la edad, el sexo, el tabaquismo, los niveles de fosfatasa alcalina y el recuento de plaquetas. Los autores concluyen que el cribado debe centrarse en aquellos pacientes con un riesgo medio y alto de desarrollar CHC, no siendo coste-efectivo en pacientes con riesgo bajo, pudiendo omitirse en este grupo de pacientes sin impactar significativamente la supervivencia<sup>121</sup>.

### **9. Predicción del riesgo de hepatocarcinoma tras la respuesta viral sostenida.**

Diferentes estudios de seguimiento a largo plazo realizados en pacientes tratados con interferón han demostrado que la probabilidad de desarrollo de hepatocarcinoma se reduce hasta en un 75% tras la RVS<sup>2-4</sup>. Lo mismo parece ocurrir con los nuevos AAD; sin embargo, otros estudios sugieren que el impacto a corto y medio plazo en los pacientes con enfermedad avanzada es menor, siendo más significativo a medio-largo plazo como ocurre en los pacientes tratados con interferón<sup>84</sup>. En este contexto, un estudio publicado en 2019 sugiere que el riesgo de CHC es superior al 2% anual, incluso 10 años después de la erradicación viral, en aquellos pacientes con cirrosis hepática o con FIB-4 basal >3.25, y sobre todo, el riesgo es mayor en pacientes que mantiene un FIB-4 >3.25 tras la RVS<sup>5</sup>. Por el contrario, en los pacientes con un FIB-4 basal <3.25, la incidencia es inferior al 1% anual.

Teniendo en cuenta las comorbilidades presentes o las que aparecen tras el tratamiento, la edad, que influye en la progresión de la fibrosis hepática, y las características basales de los pacientes, que cambian de forma dinámica tras la RVS, los modelos predictivos para estratificar los diferentes niveles de riesgo de desarrollo de CHC tras la RVS son cada vez más necesarios para identificar a los pacientes que precisan seguimiento indefinido.

En este sentido, se han evaluado múltiples modelos que incluyen variables clínicas, serológicas, moleculares y elastográficas para identificar a los pacientes con riesgo de desarrollar CHC tras la respuesta viral sostenida. Sin embargo, existe controversia acerca de qué marcadores utilizar y cuando deben ser medidos, considerando los cambios dinámicos que se producen tras el tratamiento antiviral.

El estudio realizado por Ioannou y col<sup>122</sup>, introduce la necesidad de construir un modelo de riesgo, sugiriendo que el cribado basado en la estratificación del riesgo es mejor en términos de beneficio neto que la opción de cribar a “todos” los pacientes F4 o “ninguno” de los F3. El modelo propuesto incluía la presencia de cirrosis, la edad, la RVS tras tratamiento, y los valores de ALT, AST, albúmina y plaquetas basales. Sin embargo, la definición de cirrosis estaba basada en la presencia de signos de HTP o de complicaciones clínicas, pudiendo clasificar de forma errónea como no cirróticos a pacientes en estadios más precoces de la enfermedad. En un estudio posterior<sup>5</sup>, los mismos autores utilizaron no solo las características basales de los pacientes para evaluar la gravedad de la lesión hepática, sino que introdujeron los cambios del FIB-4 a lo largo del tiempo para evaluar los diferentes niveles de riesgo de CHC tras la RVS, demostrando que los pacientes con FIB-4 basal y post tratamiento < 3.25, tienen un riesgo bajo de aparición de CHC tras la RVS.

Otros modelos han utilizado la combinación de parámetros de laboratorios y elastografía para evaluar el riesgo de CHC tras la RVS en pacientes cirróticos<sup>123</sup>. Los autores de este estudio identificaron que los pacientes con criterios extendidos de Baveno<sup>124</sup> (plaquetas >110.000/mm<sup>3</sup>, Fibroscan <25kPa) tuvieron una incidencia de CHC de 0.5% anual, pudiendo ser empleados como una posible herramienta en la clasificación de los pacientes con riesgo de CHC tras tratamiento.

Los modelos que incluyen cambios dinámicos tras la RVS podrían ser más útiles, al permitir identificar a los pacientes con lesión hepática menos avanzada y que con mayor probabilidad tendrán una mejoría o regresión de la fibrosis tras la erradicación viral. Dichos cambios fueron evaluados en un estudio italiano<sup>125</sup>, demostrando que los pacientes con una reducción de rigidez hepática superior al 30% al final del tratamiento presentaron un menor riesgo de desarrollar CHC al año de finalizar el tratamiento antiviral. Sin embargo, la realización del Fibroscan fue realizada de forma muy precoz para permitir especular sobre una mejoría o regresión de la fibrosis. Posiblemente los cambios identificados en el Fibroscan correspondan más a una mejoría de la inflamación hepática que a regresión de la fibrosis, y por tanto con sobrestimación de la lesión basal.

Un estudio español cuyo objetivo fue estimar el riesgo de CHC tras la RVS en pacientes con hepatopatía crónica avanzada compensada, observó que los pacientes con una rigidez hepática inferior a 10 kPa o entre 10-20 kPa al año de la RVS y con un valor de albúmina basal superior a 4.4 g/dL, presentaron una incidencia inferior a 1/100 pacientes por año, considerando a este grupo como de bajo riesgo. Por el contrario, los pacientes con una rigidez hepática superior a 20 kPa o entre 10-20 kPa, pero con una albúmina basal inferior a 4.4g/dL, presentaron una incidencia de CHC de 1.9/100 pacientes por año, siendo considerados de alto riesgo de CHC tras tratamiento <sup>126</sup>. Sorprende que en este estudio los factores basales no demostraron capacidad predictiva del riesgo de CHC.

Por todo lo anteriormente expuesto, parece necesario unificar criterios a través de nuevos modelos de riesgo de CHC que incluyan características clínicas y marcadores de fibrosis hepática basales de los pacientes con fibrosis avanzada y cirrosis compensada que van a ser tratados contra el virus de la hepatitis C, así como sus cambios tras la RVS, para intentar identificar de forma más eficaz a aquellos pacientes que se beneficien de un seguimiento a largo plazo.

## JUSTIFICACIÓN

La RVS tras el tratamiento antiviral reduce el riesgo de CHC en pacientes con fibrosis avanzada y cirrosis, pero no lo elimina de forma completa. Por este motivo, las guías clínicas recomiendan mantener el cribado de CHC en esta población de forma indefinida, sin considerar la amplia heterogeneidad de la lesión hepática en estos pacientes, que se traduce en un riesgo variable de CHC.

Los métodos no invasivos, ampliamente utilizados en la estadificación de la enfermedad hepática, pueden ser imprecisos, especialmente en los pacientes con fibrosis avanzada sin cirrosis. Además, no existe un criterio común para la definición del paciente F3, por lo que pueden existir numerosos pacientes mal clasificados, tanto por sobreestimación o infraestimación del grado de fibrosis; esto es relevante porque puede condicionar un cribado innecesario o un cese del seguimiento en pacientes con riesgo elevado de desarrollar CHC.

Por otro lado, la mejoría de la lesión hepática tras la RVS se ha documentado en pacientes con hepatitis crónica por VHC y también en otras enfermedades hepáticas tras la eliminación del agente causante o la desaparición de la actividad aguda inflamatoria <sup>127,128</sup>, lo que podría traducirse en una disminución del riesgo de CHC. Este hecho tiene un importante valor pronóstico y también implicaciones económicas por el coste directo e indirecto que suponen los programas de prevención y seguimiento, además del impacto sobre la calidad de vida de los pacientes <sup>129,130</sup>. Como se ha mencionado previamente, la realización de biopsia hepática de forma rutinaria tiene sus limitaciones, por lo que la posibilidad de utilizar métodos no invasivos como el Fibroscan supone una ventaja en términos de accesibilidad y aplicabilidad, permitiendo obtener medidas repetidas en el tiempo que pueden estimar la mejoría de la rigidez hepática y, eventualmente, su asociación al riesgo de desarrollo de CHC.

Por lo tanto, la presente tesis doctoral intenta ahondar en la capacidad de los marcadores no invasivos de fibrosis hepática y la de otros factores clínicos basales y dinámicos en la predicción del riesgo de CHC tras la RVS en pacientes con fibrosis hepática avanzada. Se pretende así identificar de forma precisa a los pacientes que

mantienen un riesgo elevado de CHC y que debieran continuar con programas más eficientes de vigilancia ecográfica y clínica.

## **HIPÓTESIS**

La combinación de parámetros no invasivos relacionados con la estimación del grado de fibrosis y su evolución es capaz de discriminar con precisión la persistencia del riesgo de desarrollo de carcinoma hepatocelular tras la eliminación de la replicación viral de la hepatitis C en pacientes con fibrosis avanzada y cirrosis compensada.

## **OBJETIVOS GENERAL Y ESPECÍFICOS:**

Objetivo general:

Determinar el valor predictivo de los marcadores no invasivos de fibrosis hepática medida mediante Fibroscan® y FIB-4 tras la respuesta virológica sostenida (RVS) en la aparición de CHC en pacientes con fibrosis avanzada y cirrosis compensada por el virus de la hepatitis C.

### **Objetivos secundarios:**

- Identificar los factores de riesgo para el desarrollo de CHC presentes en el momento del inicio del tratamiento.
- Determinar el valor predictivo de la dinámica de cambio (al año y los tres años del fin de tratamiento) de los marcadores no invasivos de la fibrosis hepática en la aparición de CHC.
- Determinar otras variables clínicas y analíticas que puedan asociarse a la aparición de CHC.
- Generar un modelo capaz de identificar diferentes estadios de riesgo para el desarrollo de CHC tras la presencia de RVS.
- Describir la aparición y el tipo de eventos relacionados con la cirrosis hepática tras la RVS.
- Evaluar el riesgo de CHC tras 5 años de seguimiento y determinar la aplicabilidad de los modelos en la predicción del riesgo en este periodo de tiempo.



## PACIENTES Y MÉTODOS

Se trata de un estudio observacional, multicéntrico, ambispectivo, realizado en pacientes con hepatitis crónica VHC con fibrosis avanzada o cirrosis hepática que obtuvieron RVS tras recibir tratamiento con agentes antivirales de acción directa en 8 hospitales de la comunidad de Madrid, entre enero de 2015 y diciembre de 2017. El listado de los centros e investigadores principales se recoge en el apéndice 1.

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación con Medicamentos (CEIm) del Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Los datos de todos los pacientes fueron codificados para mantener el anonimato. Todos los procedimientos fueron realizados de acuerdo con las guías de la declaración de Helsinki y las normas de Buena Práctica Clínica.

### 1. Selección de pacientes:

Los investigadores de cada dentro seleccionaron a los pacientes para su participación en el estudio de acuerdo con los siguientes criterios de inclusión y exclusión.

#### 1.1 Criterios de inclusión:

- Pacientes con hepatitis crónica VHC con **fibrosis avanzada o cirrosis** antes del tratamiento con AAD determinada mediante:
  - Elastografía de transición (Fibroscan®; Echosens SA, Paris, France)
    - F3 (>9,5-14,5 kpa)<sup>116</sup>
    - F4 (>14,5 kpa)<sup>116</sup>
  - FIB-4
    - Compatible con fibrosis avanzada > 3,25
  - Biopsia hepática compatible con fibrosis extensa
  - Criterios clínico-analíticos-ecográficos:
    - Superficie hepática con bordes nodulares, esplenomegalia en combinación con cifras de plaquetas inferiores a 150,000/mm<sup>3</sup>
    - Presencia de varices esofágicas

- Pacientes con RVS definida como ARN VHC indetectable tras 12 semanas del fin del tratamiento mediante determinación por una técnica sensible de PCR.
- Pacientes con medición válida de ET al año de tratamiento (SR>60% y IQR/MED<30%).
- Mayores de 18 años.

### 1.2 Criterios de exclusión:

- Pacientes con coinfección VIH o VHB
- Pacientes con historia de descompensación hepática previa
- Pacientes con CHC
- Pacientes que presenten **otras enfermedades hepáticas** concomitantes a excepción de MAFLD o consumo de alcohol (para que los resultados sean aplicables en la práctica clínica a la mayor parte de los pacientes tratados y curados).

### 2. Cálculo del tamaño muestral:

No fue posible un cálculo formal del tamaño muestral por carecer de datos fiables de incidencia de CHC en pacientes con RVS; por tanto, se incluyó el mayor número de pacientes posibles en los centros del estudio. Con las siguientes asunciones:

- i) La tasa de desarrollo de CHC en los pacientes potencialmente identificables como de bajo riesgo (“pacientes no expuestos”) debería ser inferior a 0,015.
- ii) Se consideró un riesgo relativo para los pacientes pertenecientes a la potencial población de alto riesgo (“pacientes expuestos”) con respecto los de bajo riesgo de 3,5.
- iii) Se consideró que la proporción entre pacientes de bajo (“pacientes no expuestos”) y alto riesgo (“pacientes expuestos”) fuera de 0,6.

Para ello hubieran sido necesarios (para un estudio de cohortes) un total de 343 pacientes en el grupo de “bajo riesgo” y de 572 pacientes en el de “alto riesgo”.

La muestra finalmente disponible en el estudio (ver más adelante) se acerca considerablemente a esta estimación.

### 3. Evaluación clínica y procedimientos del estudio.

Se recogieron las características basales de los pacientes incluyendo la edad, el sexo, el IMC, la presencia de síndrome metabólico, la ingesta de alcohol, parámetros de laboratorio relacionados con la hepatopatía, así como la presencia de HTP.

La HTP se definió por la presencia de signos sugestivos mediante eco-doppler hepático (colaterales venosas o esplenomegalia y aumento del diámetro de la porta), varices esofágicas mediante endoscopia digestiva alta o por un gradiente de presión venosa hepático > 5mmHg. La ingesta perjudicial de alcohol fue definida como aquella superior a 20g/día en mujeres o a 30g/día en hombres. De acuerdo con los criterios de la OMS, se consideró la presencia de obesidad cuando el índice de masa corporal (IMC) fue superior a 30 Kg/m<sup>2</sup> <sup>131</sup>.

Para el diagnóstico de síndrome metabólico se utilizó la definición en la que éste se establece por la presencia de al menos 3 de los siguientes criterios (Harmonizing the Metabolic Syndrome)<sup>132</sup>:

- Aumento del perímetro abdominal superior a 94 cm en varones o a 80 cm en mujeres.
- Aumento de triglicéridos: mayores o iguales a 150 mg/dl (o en tratamiento hipolipemiente específico).
- Disminución del colesterol HDL: menor de 40 mg/dl en hombres o menor de 50 mg/dl en mujeres.
- Elevación de la presión arterial: presión arterial sistólica mayor o igual a 130 mm Hg y/o presión arterial diastólica mayor o igual a 85 mm Hg (o en tratamiento antihipertensivo).
- Elevación de la glucosa de ayunas: mayor o igual a 100 mg/dl (o en tratamiento antidiabético).

La respuesta viral sostenida (RVS) fue definida como la ausencia de carga viral detectable a las 12 semanas de finalizar el tratamiento antiviral usando métodos cuantitativos con test comerciales de *polymerase chain reaction assays* (PCR) como

el Cobas TaqMan (Roche Molecular Diagnostics, Pleasanton, CA; límite de detección 15 IU/mL).

A todos los pacientes se les realizó seguimiento tras la RVS con análisis y ecografía cada 6 meses según las recomendaciones actuales.

Los valores de rigidez hepática estimada mediante Fibroscan, así como el FIB-4 se recogieron basalmente, al año y a los 3 años de finalizar el tratamiento antiviral. El Fibroscan fue realizado utilizando sonda M o XL según la constitución física del paciente, y el valor fue expresado en kiloPascuales (kPa). El resultado fue considerado fiable si el rango intercuartílico (IQR/mediana) era inferior a 0.3 (30%) y la proporción de determinaciones válidas era superior al 60%.

Se calculó el porcentaje de reducción de la rigidez hepática a 1 y 3 años tras el tratamiento mediante las siguientes fórmulas:

- DeltaFibroscan 1 año =  $([\text{rigidez basal} - \text{rigidez 1 año post tratamiento}] \times 100 / [\text{rigidez basal}])$ .
- DeltaFibroscan 3 años =  $([\text{rigidez basal} - \text{rigidez 3 años post tratamiento}] \times 100 / [\text{rigidez basal}])$ ; ambas variables fueron expresadas en forma de porcentaje (%).

El FIB-4 fue calculado en cada punto temporal según la fórmula  $[\text{edad} \times \text{aspartato aminotransferasa } \{AST\}] / [\text{plaquetas} \times \sqrt{\text{alanina aminotransferasa } \{ALT\}}]$ . También se calculó la reducción del FIB-4 al año y a los 3 años de finalizar el tratamiento y fue expresado igualmente en porcentaje (DeltaFIB-4 al año y a los 3 años [%]), con fórmulas similares a las empleadas para el cálculo del Delta Fibroscan.

Con la finalidad de evitar la incorporación en el estudio de enfermos que pudieran tener alguna lesión maligna no diagnosticada antes del tratamiento, la cohorte final incluyó a todos los pacientes que no desarrollaron CHC o descompensación hepática durante el primer año tras finalizar el tratamiento antiviral. De esta forma se pudo valorar apropiadamente la inclusión de cambios dinámicos en los modelos predictivos.

Así pues, el tiempo de seguimiento se inicia un año después de la finalización del tratamiento. A efectos del seguimiento total de la cohorte, ésta será un año más

respecto al inicio del tratamiento antiviral. Todos los pacientes de la cohorte fueron seguidos hasta la aparición de CHC, descompensación de la enfermedad hepática, o muerte registrada antes del 1 de noviembre de 2019.

Posteriormente, en los dos centros con mayor número de pacientes incluidos, se actualizó el seguimiento hasta el 1 de agosto de 2021 en una sub-cohorte de 535 pacientes registrando los mismos eventos hepáticos previamente descritos, así como la mortalidad.

Se consideró como descompensación a la aparición de una o varias de las siguientes circunstancias: ascitis clínicamente detectable, encefalopatía hepática manifiesta (“overt”) o hemorragia por varices esofágicas<sup>133</sup>.

El diagnóstico de CHC se realizó según la definición del BCLC (Barcelona-Clinic-Liver-Cáncer)<sup>134</sup>. Figura 2.

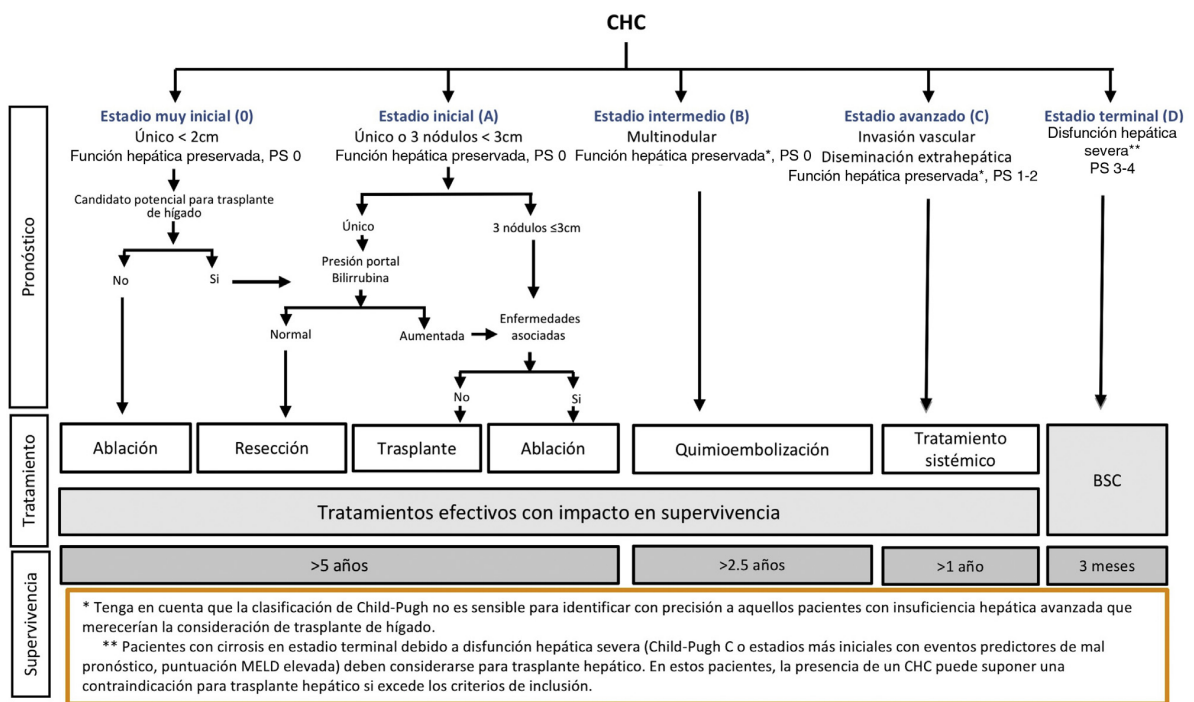


Figura 2. Clasificación de la BCLC. PS: Performance Status; BSC: Best supportive care<sup>135</sup>.

#### 4. Análisis estadístico.

Las variables categóricas fueron expresadas en frecuencia (porcentajes) y las variables continuas como medias (desviación estándar) o medianas (rango).

Las variables categóricas fueron comparadas con el test de *chi* cuadrado o con el test exacto de Fisher y las continuas con el test de la *t* de Student o la *U* de Mann-Whitney de acuerdo con las características de la distribución. Los cambios en la rigidez hepática y FIB-4 durante el seguimiento fue comparado mediante *t* de Student para muestras pareadas.

Las variables asociadas a la aparición de CHC fueron seleccionadas mediante análisis de riesgos proporcionales de Cox, univariante y multivariante. La capacidad predictiva de los diferentes modelos fue evaluada mediante el coeficiente de Harrell (Harrell's C) y el criterio de información Bayesiana (BIC), el cual compara los modelos teniendo en cuenta el número de variables predictivas. En caso de tener un coeficiente de Harrell similar, se seleccionó el modelo con un menor BIC. Las variables independientes fueron divididas en deciles, y el decil con el mejor poder discriminatorio en la aparición de CHC fue seleccionado para facilitar la interpretación del coeficiente en los modelos.

Para verificar la validez interna de los modelos se realizó un análisis *Bootstrapping*. A partir de la cohorte original se generaron 1.000 muestras diferentes mediante selección aleatoria y reemplazo, utilizando el método de muestreo condicional. Este procedimiento además de aumentar la validez interna de los resultados proporciona una estimación más fiable de los coeficientes

Para confirmar la capacidad predictiva de las variables incluidas en los modelos durante el seguimiento, se calcularon curvas ROC (receiver operating characteristic) tiempo-dependientes. Finalmente, para calcular el riesgo individual de desarrollar CHC se construyeron índices de acuerdo con el *Hazard Ratio* de las variables predictivas. Las posibles diferencias en la incidencia acumulada de CHC entre grupos de pacientes con diferentes puntuaciones de riesgo se evaluaron mediante las curvas de Kaplan-Meier y se compararon con la prueba del rango logarítmico (log-rank test). Los pacientes fueron censurados cuando ocurrieron eventos hepáticos, muertes o pérdida de seguimiento.

Los datos se analizaron con el software IBM SPSS Statistics para Mac, versión 25 (Armonk, NY: IBM corp). Las curvas ROC tiempo-dependiente fueron construidas en R (versión 3.6.3)<sup>136</sup> utilizando el paquete timeROC<sup>137</sup>. Un valor de  $p < 0,05$  se consideró estadísticamente significativo.

## RESULTADOS

Se evaluaron un total de 1046 paciente con fibrosis avanzada o cirrosis por VHC tratados en 8 hospitales de la Comunidad Autónoma de Madrid desde 2015 hasta diciembre de 2017, de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión previamente descritos. De éstos, se incluyeron finalmente en el estudio un total de 993 pacientes (94,9%), cuyas características demográficas y clínicas basales se encuentra resumidas en la tabla 1.

De los 53 pacientes no incluidos en el análisis, 19 (1,8%) perdieron el seguimiento durante el primer año; 29 pacientes (2,7%) presentaron complicaciones de la enfermedad hepática antes del primer año de seguimiento (17 hepatocarcinomas) Figura 3. Finalmente, 5 pacientes (0,4%) fallecieron antes del primer año tras la RVS por eventos no relacionados con la hepatopatía.

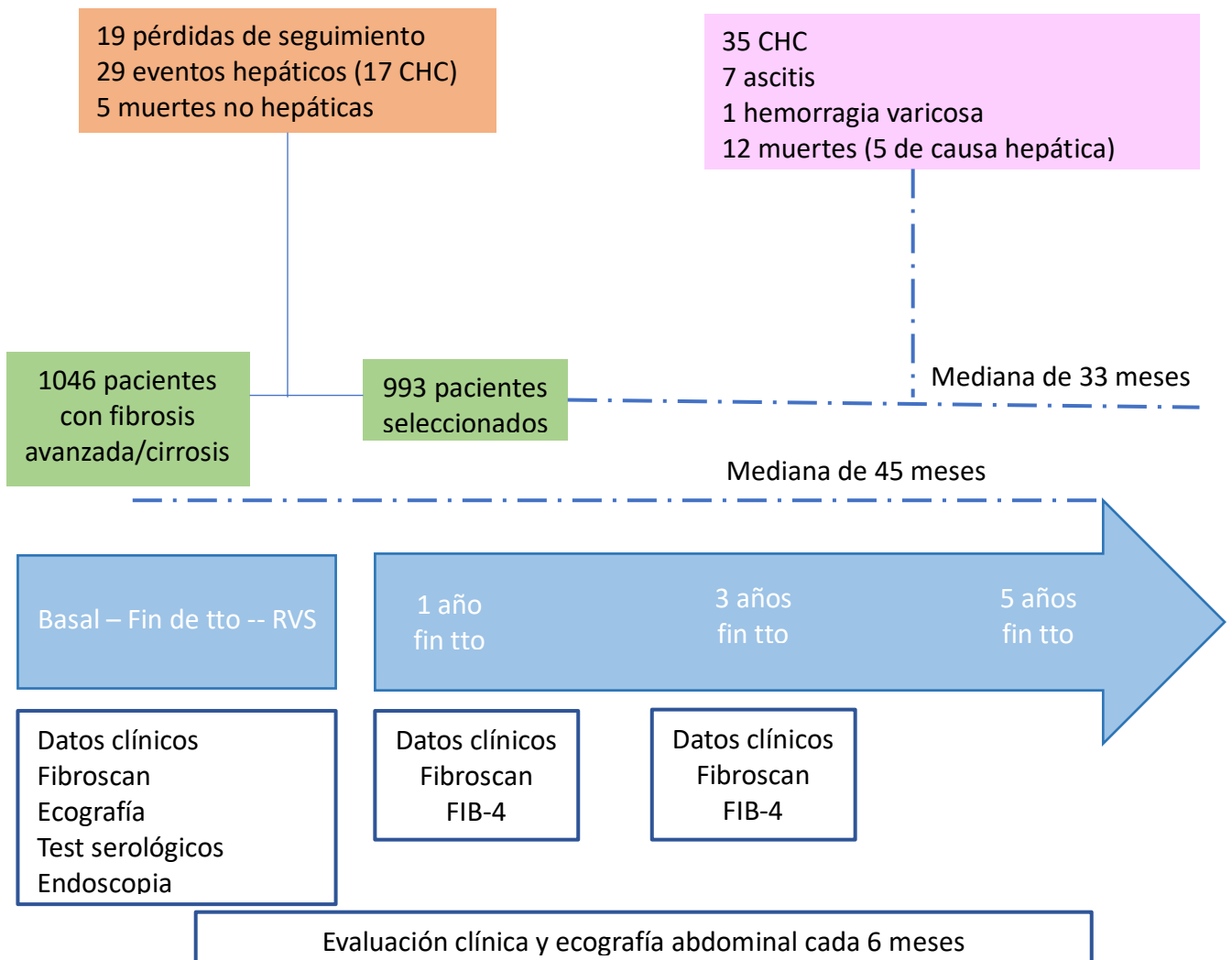


Figura 3. **Flujo de pacientes, evaluación y resultados durante el seguimiento.** CHC: carcinoma hepatocelular; FIB-4: fibrosis 4; Tto: tratamiento.



### **Características basales de la población**

Tal como se muestra en la tabla 1, la edad mediana de los pacientes incluidos fue de 61,7 (26-88) años y el 55,5% fueron hombres. La media del Fibroscan basal fue de 19 (10,7) kPa, el FIB-4 basal de 4,14 (3,83) y un 40,5% de los pacientes presentaban signos endoscópicos o radiológicos de HTP. Así mismo el 17% estaban diagnosticados de diabetes mellitus, un 20,5% eran obesos y el 9,3 presentaban síndrome metabólico. Del total de los pacientes incluidos, el 2,8% consumían alcohol de forma perjudicial.

<b>Características basales de los pacientes</b>	<b>Cohorte global n= 993</b>
Edad (años)	61,7 (26-88)
Sexo (M/F %)	55,5/44,5
ALT (UI/L)	75,4 (62,8)
AST (UI/L)	68,2 (54,3)
Bilirrubina (mg/dL)	0,9 (0,4)
Albúmina (g/dL)	4,2 (0,4)
Plaquetas (x10 <sup>9</sup> /L)	152,6 (63,2)
GGT (UI/L)	91,6 (89,6)
Fosfatasa alcalina (UI/L)	89,7 (38,1)
INR	1,2 (5)
Alfafetoproteína sérica (ng/mL)	11 (21,9)
Genotipo viral (1b/no 1b)	66%; 44%
FIB-4	4,1 (3,8)
MELD	7,6 (2,4)
Fibroscan (kPa)	19,02 (10,7)
Diabetes Mellitus (%)	169/809 (17) (n=978)
Obesidad (%)	161/625 (20,5) (n=786)
Síndrome metabólico (%)	86/835 (9,3) (n=921)
Signos radiológicos o endoscópicos de HTP (%)	342/503 (40,5) (n=845)
Ingesta perjudicial de alcohol (%)	22/811 (2,8/97,2) (n=833)

Tabla 1. **Características basales la población a estudio.** Los datos están expresados en forma de media (DE), mediana (rango) o n (%). FIB-4: fibrosis 4. MELD: Model for End-stage Liver Disease.

### Eventos durante el seguimiento

Tras una mediana de seguimiento de 45 meses (rango 13-53 meses) se observaron 43 eventos (4,3%): 7 pacientes presentaron descompensación edemoascítica (0,7%), 1 paciente presentó hemorragia varicosa y 35 enfermos desarrollaron CHC (3,52)%. La probabilidad de desarrollar CHC fue de 1,4%, 2,2% y 4,1% a los 12, 24 y 36 meses de seguimiento (figura 4). Asimismo 12 pacientes (1,2%) fallecieron durante el seguimiento, de los cuales 5 (0,5%) fallecieron por eventos hepáticos y 7 (0,7%) por causa no hepática (tabla 2).

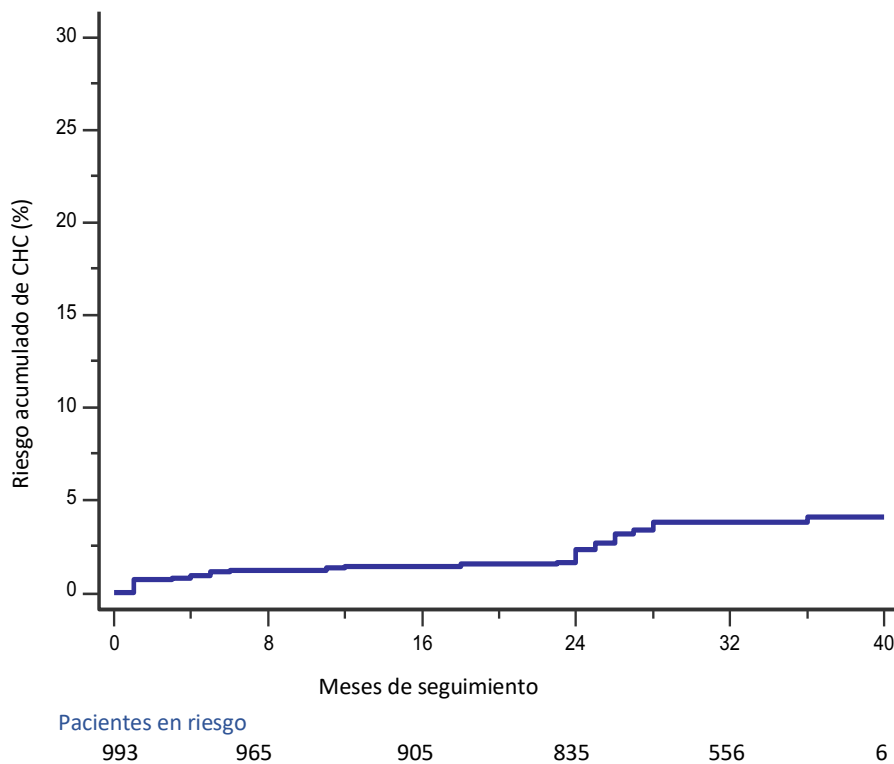


Figura 4. **Incidencia de hepatocarcinoma en la población estudiada:** 1,4% a los 12 meses, 2,2% a los 24 meses y 4,1% a los 36 meses. CHC: Carcinoma hepatocelular.

<b>Causas de muerte</b>	<b>n (%)</b>
<i>Eventos hepáticos</i>	5(0,5)
• PBE. Sepsis	1(0,1)
• Hemorragia varicosa	1(0,1)
• ACLF	2(0,2)
• SHR	1(0,1)
<i>Eventos no hepáticos</i>	7(0,7)
• Eventos cardiovasculares	3(0,3)
• Cáncer de páncreas	1(0,1)
• Linfoma	1(0,1)
• Neumonía	1(0,1)
• Desconocido	1(0,1)

Tabla 2. **Causas de muerte durante el seguimiento.** PBE: peritonitis bacteriana espontánea. ACLF: Acute on chronic liver failure. SHR: síndrome hepatorenal.

### **Cambios dinámicos de los test no invasivos tras la RVS**

La rigidez hepática y el FIB-4 tuvieron un comportamiento dinámico similar tras la respuesta viral sostenida. Así, la rigidez hepática después de la RVS disminuyó de forma marcada con respecto al valor basal al año y a los tres años ([19 (10,7) kPa, 12,1 (8,7) kPa y 9 (6,1) kPa]. Sin embargo, la media de descenso desde la situación basal hasta el primer año fue superior a la observada entre el primer y el tercer año [6,7 kPa (IC 95% 7,2-6,2 ) Vs. 1,6 kPa (IC 95% 1,7-1,4 );  $p < 0,001$ ].

De forma similar el FIB-4 se redujo de forma significativa respecto al valor basal al año y a los tres años [4,1 (3,9), 2,5 (2,3) y 2,3 (2,1)], siendo la reducción media desde la situación basal a la observada el primer año superior a la observada entre el primer año y el tercer año [1,62 (IC 95% 2,1-1,1) Vs. 0,25 (IC 95% 0,3-0,1);  $p < 0,0001$ ]. Figuras 5 y 6.

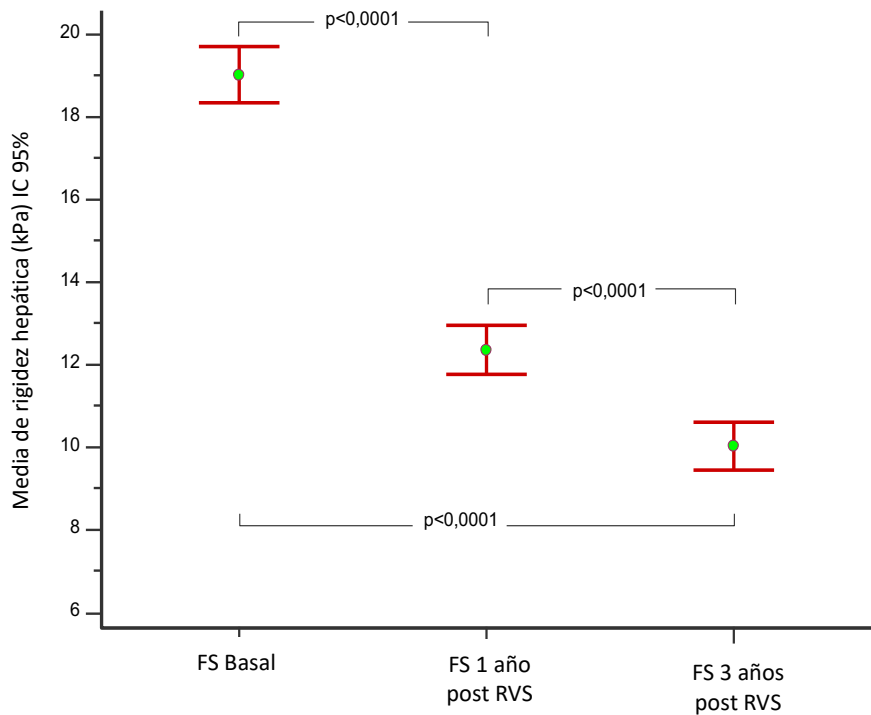


Figura 5. **Cambios dinámicos de la rigidez hepática durante el seguimiento.** La media de descenso de la rigidez hepática tras la RVS desde el valor basal fue de 6,7 kPa (IC 95% 7,2-6,2 ) en el primer año Vs. 1,6 kPa (IC 95% 1,7-1,4 ) entre el primer y el tercer año. FS: Fibroscan. RVS: respuesta viral sostenida. IC: intervalo de confianza.

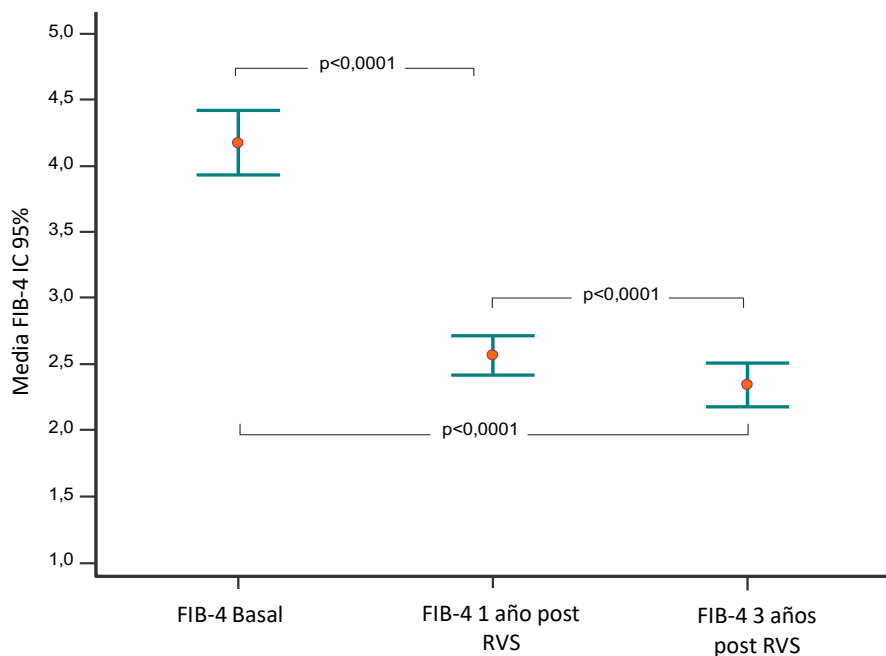


Figura 6. **Cambios dinámicos del FIB-4 durante el seguimiento.** La media de descenso del FIB-4 tras la RVS desde el valor basal fue de 1,62 (IC 95% 2,1-1,1) en el primer año Vs. 0,25 (IC 95% 0,3-0,1) entre el primer año y el tercer año. FIB-4: fibrosis 4. RVS: respuesta viral sostenida. IC: intervalo de confianza.

### **Variables predictivas del riesgo de aparición de CHC**

- Análisis univariante:

Los pacientes que desarrollaron CHC durante el seguimiento, tenían una edad superior, presentaban peor función hepática y tenían valores de rigidez hepática y FIB-4 basal más elevados que los pacientes sin hepatocarcinoma al final del seguimiento (tabla 3).

<b>Total de pacientes (n= 993)</b>	<b>No CHC (n=948)</b>	<b>CHC (n=35)</b>	<b>p</b>
Edad	61,5 (26-88)	66 (40-84)	0,06
Sexo masculino	508 (55,1%)	23 (65,7%)	0,14
Diabetes Mellitus	161 (17%)	8 (22,9%)	0,24
Hipertensión arterial	295 (33,9%)	19 (32,8%)	0,863
Signos de HTP	324 (39,7%)	21 (60%)	0,01
Ingesta perjudicial de alcohol	17 (2,2%)	5 (15,2%)	0,001
Tabaco	159 (20,1%)	14 (25%)	0,374
Albúmina (g/dL)	4,21 (0,40)	3,94 (0,35)	<0,001
Plaquetas (x10 <sup>9</sup> /L)	153,62 (62,61)	127,68 (75,03)	0,01
ALT (UI/L)	75,41 (62,49)	76,37 (7,91)	0,93
AST (UI/L)	68,07 (53,79)	73,14 (43,19)	0,58
GGT (UI/L)	90,51 (88,74)	122,17 (105,06)	0,08
Bilirrubina (mg/dL)	0,96 (0,42)	1,14 (0,39)	0,01
MELD	7,59 (2,40)	8,40 (2,81)	0,05
FIB-4	4,10 (3,88)	6,03 (3,62)	0,004
Fibroscan (kPa)	19,12 (10,59)	28,28 (14,91)	<0,001
FIB-4 1 año	2,50 (2,27)	4,26 (3,08)	<0,001
Fibroscan 1 año	12,10 (8,92)	19,50 (12,44)	<0,001
Delta Fibroscan 1 año	34,51 (28,29)	19,09 (35,98)	0,004
GGT 1 año (UI/L)	31,04 (28,23)	63,56 (64,10)	<0,001

Tabla 3. **Características basales de pacientes con y sin CHC durante el seguimiento.** Los datos están expresados en forma de media (DE), mediana (rango) o n (%). ALT: alanina aminotransferasa; AST: aspartato aminotransferasa; GGT: gamma-glutamyl transferasa; HTP: hipertensión portal; FIB-4: fibrosis 4; MELD: Model for End-stage Liver Disease.

Como se muestra en la tabla 4, los factores predictivos del desarrollo de hepatocarcinoma en el análisis univariante fueron la ingesta perjudicial de alcohol, la presencia de signos de HTP, la albúmina basal, la bilirrubina sérica basal, las plaquetas basales, el FIB-4 basal, la puntuación MELD y el Fibroscan basal.

Asimismo, entre las variables determinadas al año de finalizar el tratamiento, el valor de rigidez hepática y su reducción (delta Fibroscan), el FIB-4, y el valor de GGT se asociaron al desarrollo de CHC.

- Análisis multivariante:

Para la elaboración del análisis multivariante y facilitar la posterior aplicabilidad del modelo, se excluyeron variables con difícil extrapolación entre los diferentes centros (p.ej, la ingesta mantenida de alcohol), para evitar colinealidad (p. ej. Bilirrubina, ya incluida en el MELD) o por existir demasiados valores ausentes (GGT al año)

En el análisis multivariante, únicamente la albúmina basal, el valor basal de rigidez hepática (kPa) y el FIB-4 y el descenso de la rigidez hepática al año del tratamiento (Delta Fibroscan 1 año) fueron factores de riesgo independiente para el desarrollo de CHC.

	Univariante		Multivariante	
	HR (95% IC)	P	HR (95% IC)	P
Edad	1,032 (1,000-1,065)	0,05	1,019 (0,984-1,056)	0,280
Sexo masculino	0,649 (0,323-1,303)	0,22		
Diabetes	1,437 (0,653-3,164)	0,36		
Ingesta perjudicial de alcohol	2,054 (1,216-3,470)	0,007		
Signos de HTP	2,160 (1,098-4,298)	0,024		
Albúmina (g/dL)	0,243 (0,119-0,494)	<0,001	0,400 (0,206-0,776)	0,007
Plaquetas (x10 <sup>9</sup> /L)	0,983 (0,987-0,999)	0,017		
ALT (UI/L)	1,000 (0,995-1,006)	0,854		
AST (UI/L)	1,002 (0,996-1,007)	0,511		
Bilirrubina (mg/dL)	1,913 (1,091-3,351)	0,023		
MELD	1,102 (1,003-1,212)	0,044	0,990 (0,854-1,148)	0,896
FIB-4	1,066 (1,019-1,114)	<0,005	0,978 (0,877-1,091)	0,689
Delta FIB-4				
Fibroscan (kPa)	1,047 (1,027-1,067)	<0,001	1,036 (1,015 – 1,057)	<0,001
FIB-4 1 año	1,076 (1,023-1,064)	<0,001	1,069 (1,001 – 1,142)	0,004
Fibroscan 1 año	1,095 (1,023-1,064)	<0,001	0,976 (0,912-1,045)	0,488

Delta Fibroscan 1 año (%)	0,990 (0,989-0,997)	0,003	0,998 (0,982 – 0,994)	<0,001
GGT 1 año (UI/L)	1,015 (1,010-1,020)	<0,001		

Tabla 4. **Factores predictivos de desarrollo de CHC.** Análisis univariante y multivariante. HTP: hipertensión portal; ALT: alanina aminotransferasa; AST: aspartato aminotransferasa; GGT: gamma-glutamyl transferasa; FIB-4: fibrosis 4; MELD: Model for End-stage Liver Disease.

Para aumentar la capacidad predictiva de las variables independientes asociadas al evento y simplificar su aplicación clínica, se construyeron dos modelos. El primer modelo (tabla 5) incluyó la albúmina basal, el Fibroscan basal y su reducción al año tras tratamiento (Delta Fibroscan). La selección de los puntos de cortes con un mayor poder discriminativo (C de Harrell 0,77) se muestra en la tabla 5.

Modelo A	Punto de corte	HR	IC (95%)	P
Fibroscan basal	17,3 kPa	3,71	1,659-8,333	0,001
Albúmina basal	4,2 g/dL	3,34	1,363-8,206	0,008
Delta Fibroscan	25,5 %	3,22	1,555-6,690	0,002

Tabla 5. **Riesgo de carcinoma hepatocelular. Modelo A.** HR representa el HR del punto de corte seleccionado para cada variable

Con la finalidad de disponer de un modelo que no incluyera la determinación de rigidez hepática, no disponible universalmente, se construyó un segundo modelo utilizando únicamente parámetros de laboratorio, incluyendo marcadores serológicos de fibrosis hepática. La combinación con mejor capacidad predictiva identificó el FIB-4 basal y al año post tratamiento, la albúmina basal y la GGT al año post tratamiento con los correspondientes puntos de corte que se indican en la tabla 6 (C de Harrell 0,81).

<b>Modelo B</b>	<b>Punto de corte</b>	<b>HR</b>	<b>IC (95%)</b>	<b>P</b>
FIB-4 basal	3,7	2,19	0,992 – 4,856	0,052
FIB-4 1 año	3,3	1,92	0,903 – 4,080	0,090
Albúmina basal	4,2 g/dL	3,40	1,414 – 8,182	0,006
GGT 1 año	42 UI/L	4,19	2,101 – 8,384	0,000

Tabla 6. **Riesgo de carcinoma hepatocelular. Modelo B.** HR representa el HR del punto de corte seleccionado para cada variable. FIB-4: fibrosis 4; GGT: gamma-glutamyl transferasa.

La validez interna de ambos modelos y de los coeficientes asignados a cada variable se comprobó mediante un análisis bootstrapping que se muestra en la tabla 7. Como se puede apreciar, los estimadores (y sus IC) obtenidos mediante esta técnica fueron similares a los observados en cada uno de los modelos propuestos.

<b>Modelo A</b>			
	<b>HR observado</b>	<b>IC (95%)</b>	<b>P</b>
Fibroscan basal	3,718	1,541 – 8,969	0,003
Albúmina basal	3,344	1,199 – 9,327	0,021
Delta Fibroscan	3,226	1,481 – 7,027	0,003
<b>Modelo B</b>			
FIB-4 basal	2,195	0,968 – 4,981	0,060
FIB-4 1 año	1,920	0,881 – 4,184	0,100
Albúmina basal	3,402	1,319 – 8,772	0,011
GGT 1 año	4,197	1,998 – 8,817	0,000

Tabla 7. **Análisis por Bootstrapping de las variables seleccionadas como predictoras del riesgo de CHC.** FIB-4: fibrosis 4; GGT: gamma-glutamyl transferasa.

Para asignar un riesgo individual de desarrollar hepatocarcinoma a cada paciente durante el seguimiento, se aplicó una puntuación basada en la magnitud del



Hazard ratio (HR) de las distintas variables incluidas en los modelos, de acuerdo con los puntos de corte con la mayor capacidad predictiva de riesgo de CHC.

De esta manera en el modelo A la puntuación podía variar de 0 a 3 puntos, y en el modelo B de 0 a 6 puntos. (Tabla 8).

<b>Modelo A</b>	<b>Punto de corte</b>	<b>Puntuación</b>
Fibroscan basal	< 17,3 kPa	0
	> 17,3 kPa	1
Albúmina basal	> 4,2 g/dL	0
	< 4,2 g/dL	1
Delta Fibroscan	> 25,5 %	0
	< 25,5%	1
<b>Modelo B</b>		
FIB-4 basal	< 3,7	0
	> 3,7	1
FIB-4 1 año	< 3,3	0
	> 3,3	1
Albúmina basal	> 4,2 g/dL	0
	< 4,2 g/dL	2
GGT 1 año	< 42 UI/L	0
	> 42 UI/L	2

Tabla 8. **Puntuación para el riesgo individual de CHC para cada uno de los modelos predictivos.** FIB-4: fibrosis 4; GGT: gamma-glutamyl transferasa.

#### EVALUACION DE LA CAPACIDAD PRONÓSTICA DEL MODELO A

La proporción de pacientes que desarrollaron CHC fue de 0%, 2,1%, 5,8% y 16,3% a los 3 años de seguimiento para los pacientes con una puntuación de 0 (Fibroscan basal <17,3, delta Fibroscan >25,5%, albúmina basal >4,2g/dL), 1, 2 y 3 respectivamente (Log Rank <0,001) (figura 7). De esta forma se definieron 4 grupos de riesgo de CHC: muy bajo, bajo, intermedio y alto riesgo de CHC, con una incidencia anual de CHC de 0, 0,61, 1,74 y 5,09 por cada 100 pacientes/año, en cada grupo respectivamente.

Intentando incrementar la aplicabilidad práctica del modelo, se agruparon los pacientes con puntuación 0 y aquellos con puntuaciones de 1,2 y 3. Como se puede apreciar en la figura 8, la incidencia acumulada de CHC con el modelo A agrupado fue de 0% en los pacientes con puntuación 0 y de 4,3% en los pacientes con puntuación 1-3 (Log Rank 0,002).

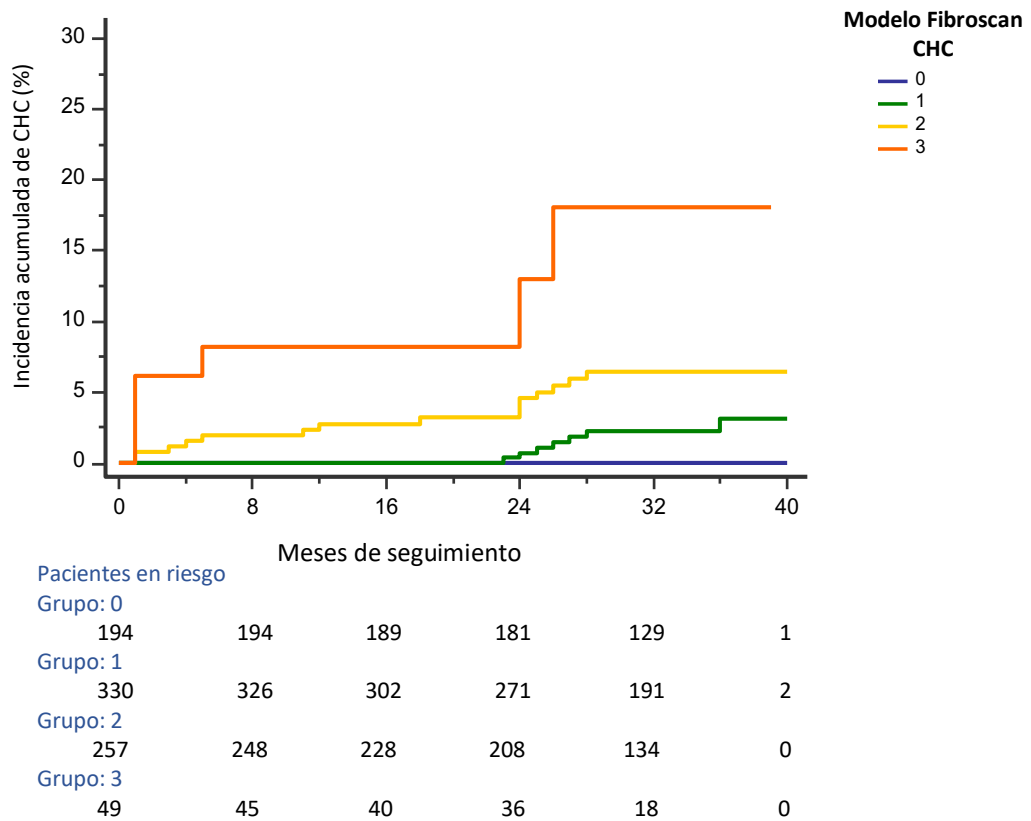


Figura 7. Incidencia acumulada de CHC con el modelo basado en Fibroscan. Log Rank <0,001

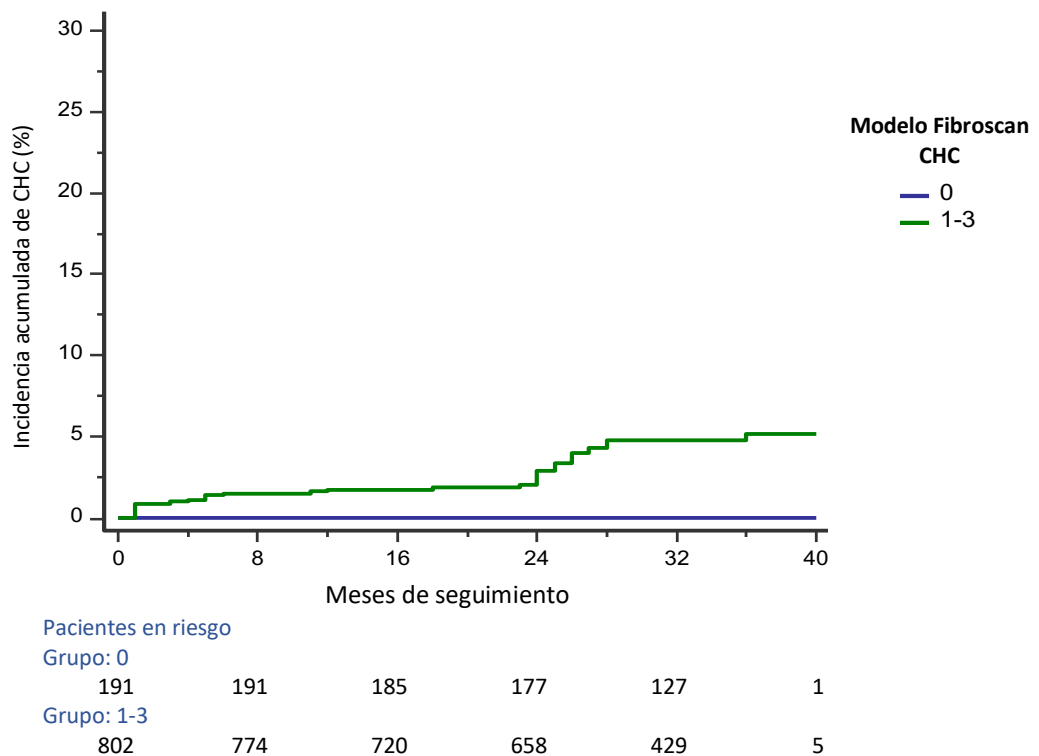
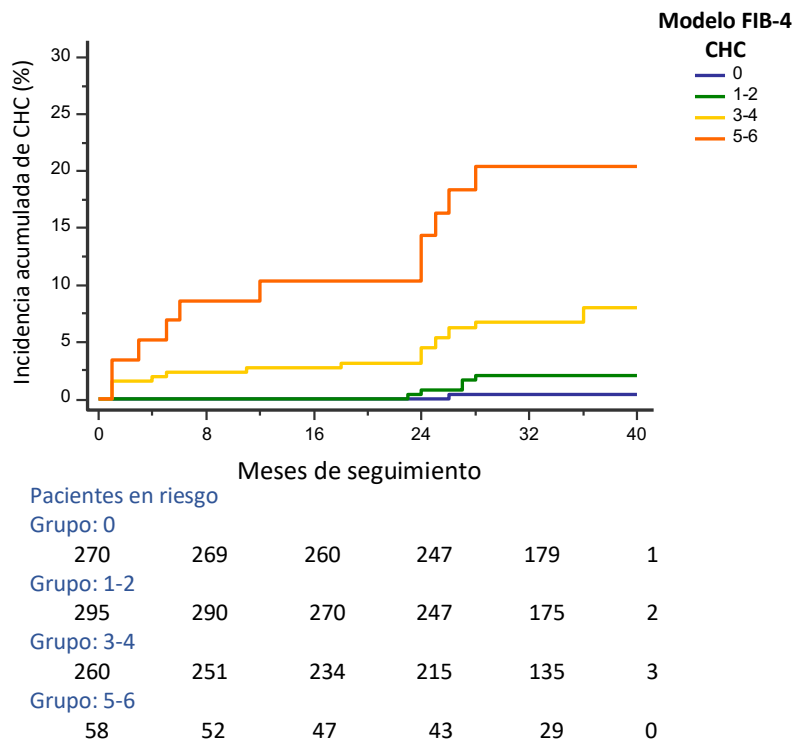


Figura 8. Incidencia acumulada de CHC con el modelo agrupado basado en Fibroscan. Log Rank =0,002

### EVALUACION DE LA CAPACIDAD PRONÓSTICA DEL MODELO B

La proporción de pacientes que desarrollaron CHC fue de 0,4%, 1,7%, 6,5% y 19% a los 3 años de seguimiento para los pacientes con una puntuación de 0 (FIB-4 basal < 3,7, FIB-4 1 año <3,3, albúmina basal > 4,2 g/dL y GGT 1 año <42UI/L) 1-2, 3-4 y 5-6 respectivamente (Log Rank <0,001) (figura 9). De esta forma se definieron 4 grupos de riesgo: muy bajo riesgo, bajo riesgo, riesgo intermedio y alto riesgo con una incidencia anual de 0,10, 0,49, 1,89, 5,67 por 100 pacientes/año, respectivamente.

Para incrementar la aplicabilidad práctica de este modelo, se agruparon los pacientes con puntuación 0 y aquellos con puntuaciones 1-6. Como se aprecia en la figura 10, la incidencia acumulada aplicando el modelo B agrupado fue de 0% vs 4,91% en los pacientes en puntuación 0 y 1-6 respectivamente (Log Rank= 0,0005).



**Figura 9. Incidencia acumulada de CHC con el modelo basado en FIB-4. Log Rank <0,001**

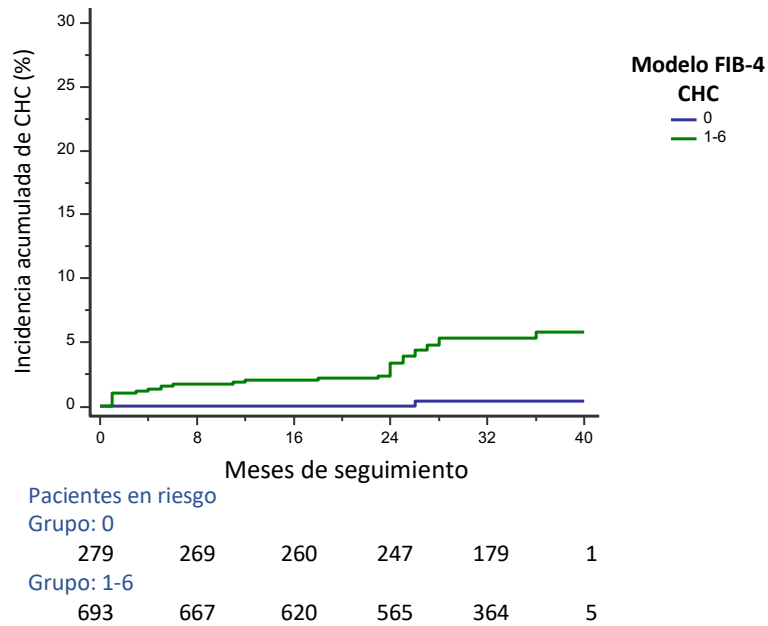
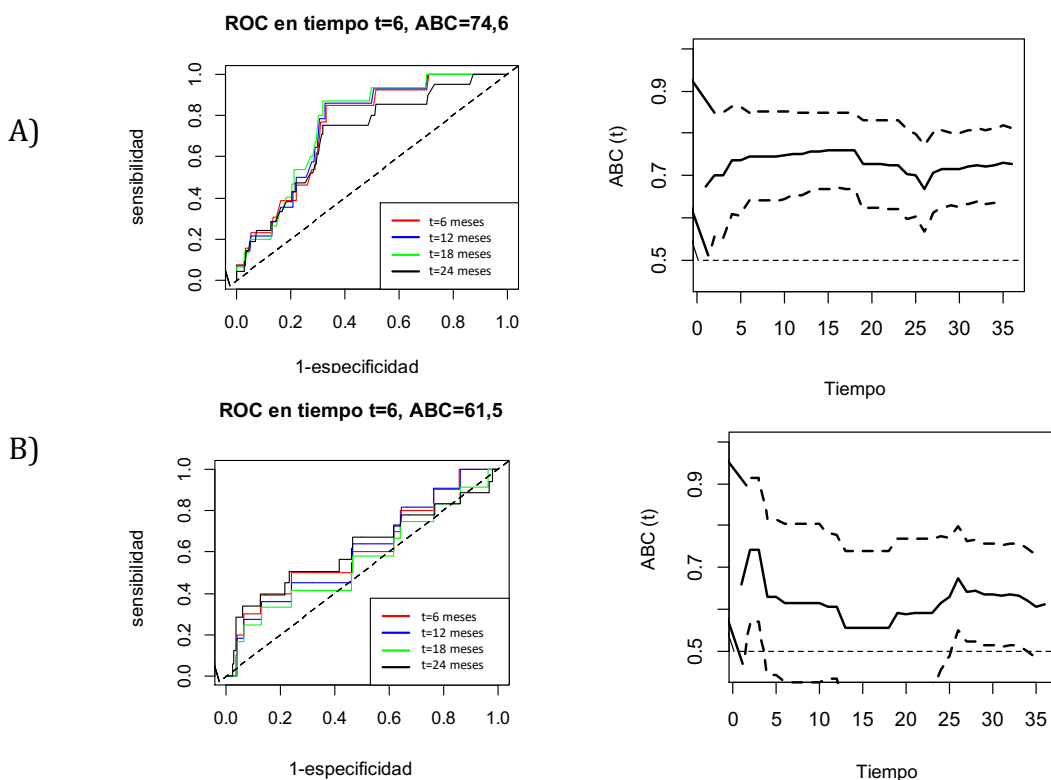


Figura 10. **Incidenca acumulada de CHC con el modelo agrupado basado en FIB-4. Log Rank= 0,0005**

**Análisis de la capacidad predictiva a lo largo del tiempo**

Para confirmar la capacidad predictiva de las variables incluidas en los modelos durante el tiempo de seguimiento, se calcularon curvas ROC dependientes del tiempo para cada variable. Dichas curvas indicaron que las variables incluidas en ambos modelos mantuvieron su capacidad predictiva a los 6, 12, 24, y 36 meses de seguimiento (figura 11).



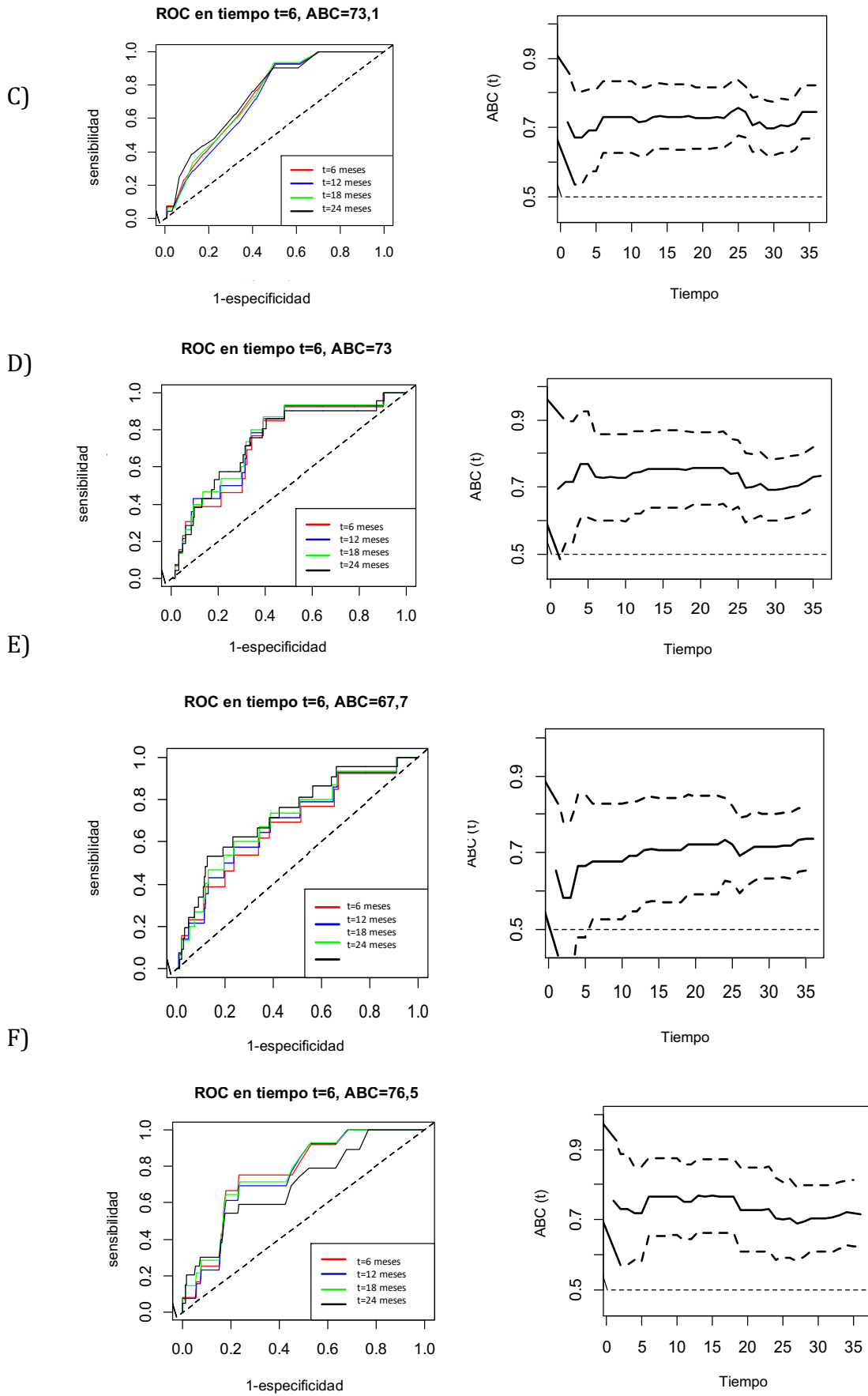


Figura 11. **Curvas ROC dependientes del tiempo.** Análisis de las variables incluidas en los modelos: A) Fibroscan; B) Delta Fibroscan; C) Albúmina basal; D) FIB-4 basal; E) FIB-4 1 año post tratamiento; F) GGT 1 año post tratamiento. ABC: área bajo la curva.

### **Confirmación de la capacidad predictiva a largo plazo de los modelos**

Para valorar si la capacidad pronóstica de las variables descritas, todas ellas obtenidas cerca de la obtención de la RVS, se mantenía a lo largo del tiempo, se actualizó el seguimiento en 535 pacientes de la cohorte global (53,8%). Las características basales de esta cohorte eran similares a las de la cohorte global (tabla 9). En esta sub-cohorte se observaron, tras una mediana de seguimiento de 54 (rango 13-62) meses, 48 casos de CHC (8,9%) (figura 12). En cuanto a los eventos hepáticos no relacionados con CHC, solo se registraron 2 (0,3) nuevos casos de descompensación edemoascítica durante este periodo.

<b>Variable</b>	<b>Cohorte largo seguimiento (n=535)</b>	<b>Cohorte global (n=993)</b>	<b>p</b>
Edad (años)	61,5 (11,08)	62,63 (11,04)	0,065
Albúmina basal (g/dL)	4,33 (1,55)	4,23 (1,13)	0,157
Plaquetas basales (x10 <sup>9</sup> /L)	151,93 (63,65)	153,03 (62,88)	0,740
Fibroscan basal (kPa)	19,18 (11,39)	18,92 (10,84)	0,667
FIB-4 basal	3,94 (3,94)	4,02 (3,69)	0,689
Albúmina 1 año (g/dL)	4,46 (0,40)	4,39 (0,46)	0,003
FIB-4 1 año	2,51 (2,51)	2,53 (2,26)	0,884
Fibroscan 1 año	12,97 (10,15)	12,25 (9,10)	0,168
GGT 1 año (UI/L)	31,74 (32,97)	32,42 (31,28)	0,695

**Tabla 9. Características de los pacientes incluidos en la cohorte de mayor seguimiento en comparación con la cohorte global.** Los datos están expresados en forma de media (DE). FIB-4: fibrosis 4; GGT: gamma-glutamil transferasa.

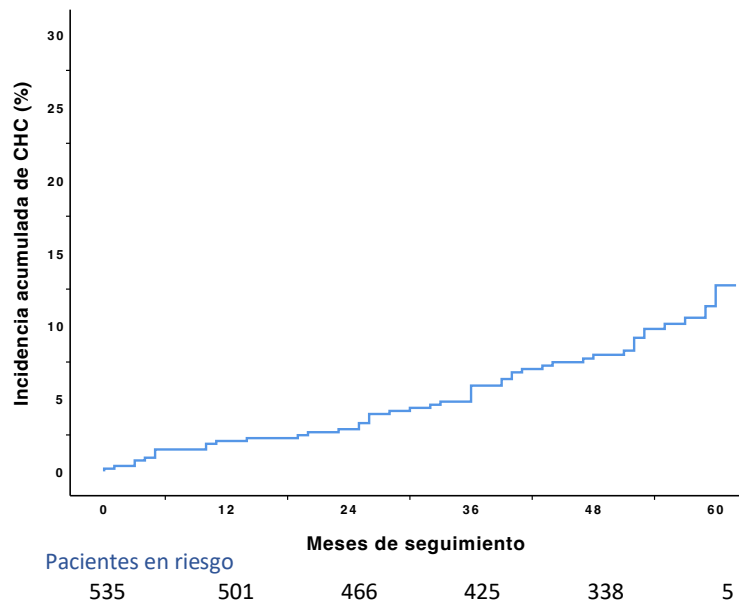


Figura 12. **Incidencia acumulada de hepatocarcinoma en la cohorte de mayor seguimiento.**

Ambos modelos mantuvieron su capacidad predictiva de riesgo de CHC en la cohorte de seguimiento a largo plazo, identificando diferencias en la incidencia de CHC a los 5 años en los grupos de riesgo muy bajo, bajo, intermedio y alto.

Según el modelo A basado en el Fibroscan, la proporción de pacientes que desarrollaron CHC fue de 2,2, 7,3%, 15,1 y 30% a los 5 años de seguimiento para los pacientes con puntuación 0 (Fibroscan basal <17,3 KPa, delta Fibroscan >25,5%, albúmina basal >4,2g/dL), 1, 2 y 3 respectivamente (Long Rank <0,001) (figura 13). La incidencia anual en los grupos de riesgo muy bajo, bajo intermedio y alto riesgo fue de 0,43, 1,41, 2,96 y 6 por 100 pacientes/año, respectivamente.

De forma similar a lo referido para la cohorte inicial, se agruparon los pacientes con puntuación 0 y aquellos con puntuación 1, 2 y 3. Como se puede apreciar en la figura 14, la incidencia de CHC con el modelo A agrupado en los pacientes con puntuación 0 fue 2.2% vs 11.2% de los pacientes con puntuación 1-3 (Log Rank p 0.001).

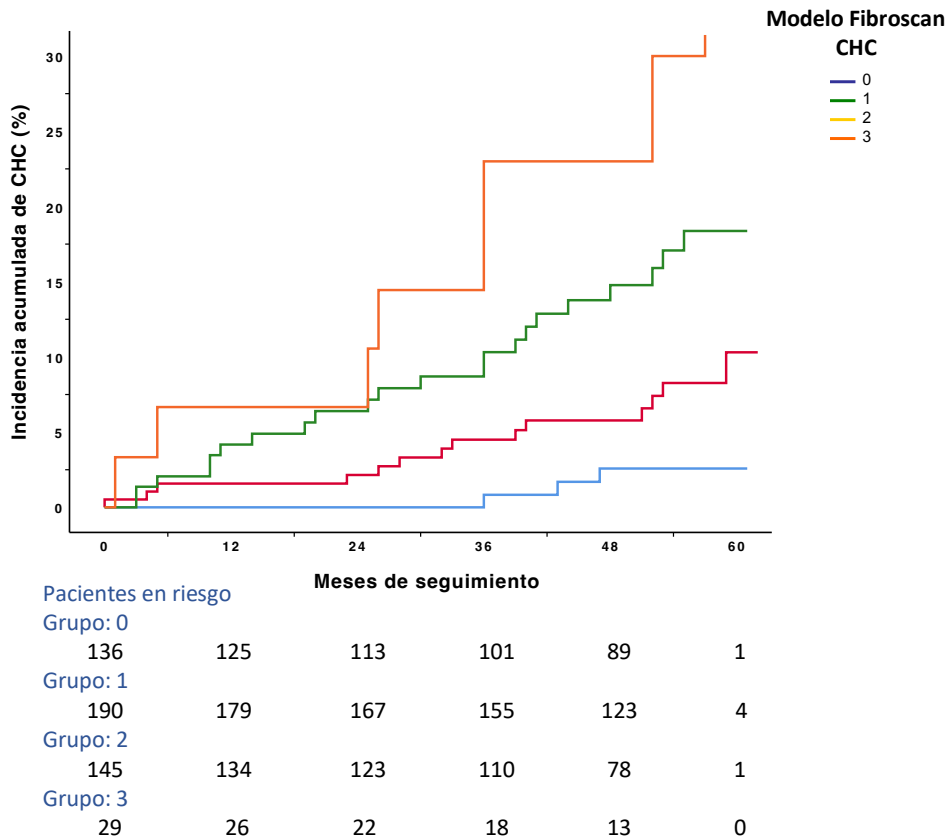


Figura 13. Incidencia acumulada de CHC con el modelo basado en Fibroscan en 5 años. Long Rank <0,001.

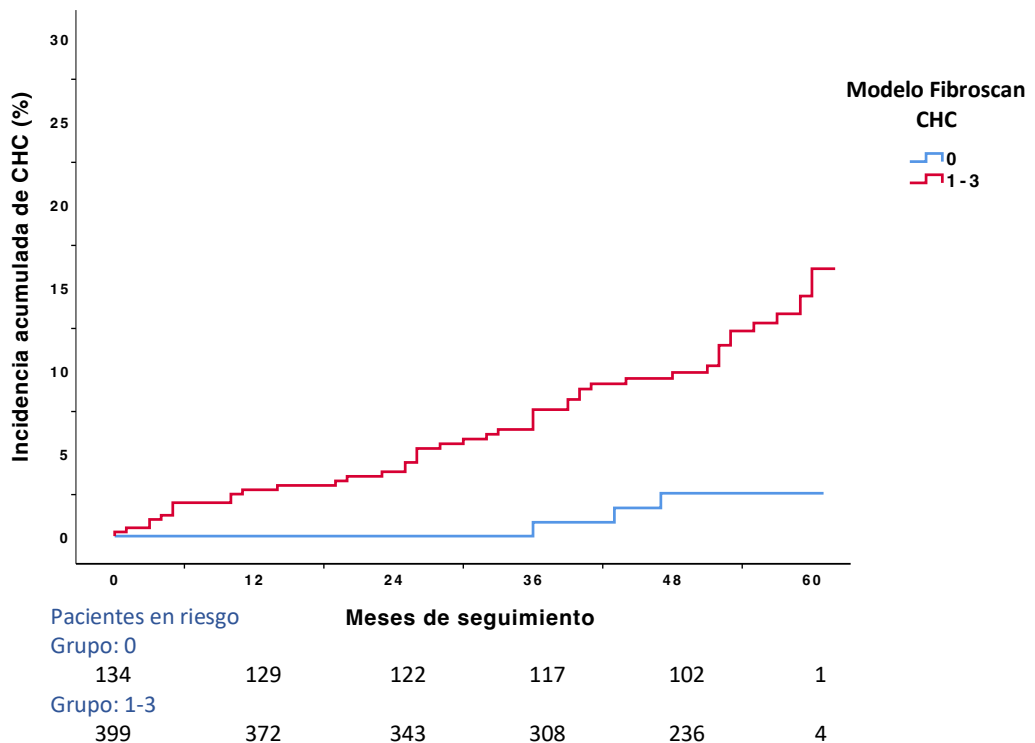


Figura 14. Incidencia acumulada de CHC con el modelo agrupado basado en Fibroscan en 5 años. Log Rank p 0.001.



Aplicando el modelo B, la proporción de pacientes que desarrollaron CHC fue de 2,1%, 7,5%, 16,3 % y 32,1% a los 5 años para los pacientes con puntuación 0 (FIB-4 basal < 3,7, FIB-4 1 año <3,3, albúmina basal > 4,2 g/dL y GGT 1 año <42UI/L) 1-2, 3-4 y 5-6 respectivamente (log Rank <0,001) (figura 15). La incidencia anual en los grupos de riesgo muy bajo, bajo riesgo, intermedio y alto riesgo fue de 0,41, 1,47, 3,20, 6,33 por 100 pacientes/año, respectivamente.

Como se aprecia en la figura 16, en el modelo B agrupado la incidencia de CHC en los pacientes con puntuación 0 fue de 2,1% y de 12.8% para pacientes con puntuación 1-6 (log Rank P <0,001).

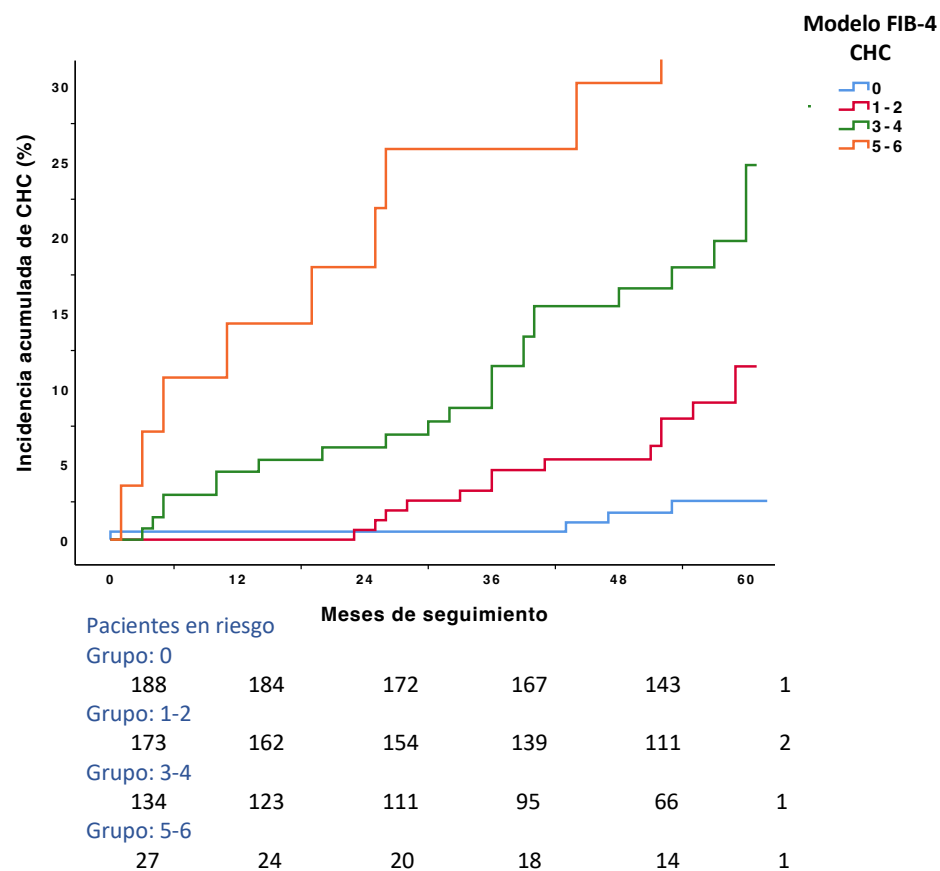


Figura 15. Incidencia acumulada de CHC con el modelo basado en FIB-4 en 5 años. Log Rank <0,001.

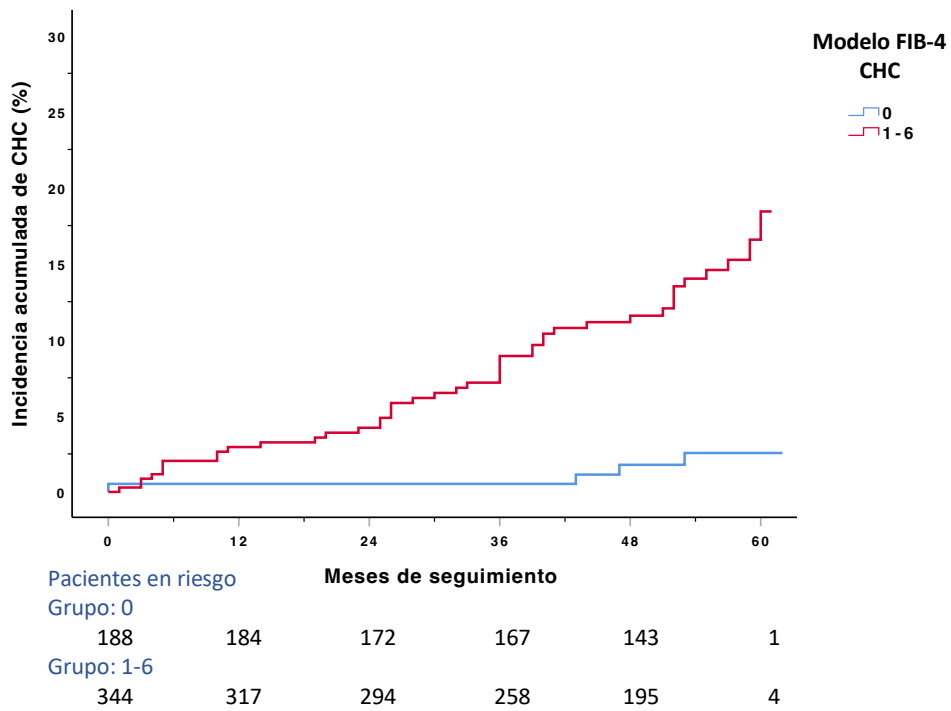


Figura 16. Incidencia acumulada de CHC con el modelo agrupado basado en FIB-4 en 5 años. Log Rank P <0,001.

## DISCUSIÓN

La eficacia del tratamiento de la hepatitis C con antivirales de acción directa es un hecho prácticamente sin precedentes en el abordaje terapéutico de las infecciones virales. La probabilidad de eliminación permanente del virus tras el tratamiento está próxima al 100 % de los pacientes, con un perfil de seguridad cercano a lo óptimo. Sin embargo, la desaparición del agente infeccioso no conlleva necesariamente la desaparición del riesgo de progresión de la enfermedad hepática avanzada. Este aspecto es especialmente relevante en lo que respecta al riesgo de desarrollo de hepatocarcinoma, cuya incidencia no se elimina por completo tras la respuesta viral sostenida. Desde un punto de vista epidemiológico, los modelos de simulación de incidencia de CHC, estiman un aumento progresivo del número de nuevos casos hasta 2031. Por otra parte, las estrategias de cribado de infección y microeliminación están aflorando nuevos casos de infección por VHC cuyo diagnóstico se realiza en fase de fibrosis avanzada o cirrosis hepática. Por tanto, se ha estimado un incremento superior al 60% en el número de pacientes que deberían someterse a las estrategias de cribado de CHC tras la RVS de acuerdo con las recomendaciones actuales. En definitiva, se prevé que el pico de pacientes curados e incluidos en programas de cribado se alcanzará en el año 2040<sup>8</sup>.

Uno de los aspectos importantes de los programas de vigilancia epidemiológica es que deben ser aplicables en grandes poblaciones de pacientes y, por otra parte, ser coste-efectivos, sobre todo si se mantienen de por vida. En el caso del cáncer hepático las guías actuales recomiendan mantener el cribado si el riesgo de desarrollo del tumor es superior al 1.5% anual, como es el caso de los pacientes con cirrosis establecida. Sin embargo, existe una notable controversia acerca de la necesidad de mantener el seguimiento de forma indefinida en todos los pacientes con fibrosis avanzada (F3) tras la RVS, tal como se recomienda en la actualidad <sup>9,10</sup>. En los últimos años se han publicado varios estudios que han evaluado este asunto, y en los que los autores concluyen que realizar una vigilancia universal, no es coste-efectivo<sup>120,138,139</sup>, especialmente en los pacientes con fibrosis avanzada (F3). De hecho, en un artículo de opinión publicado recientemente, se argumenta que el cribado a todos los pacientes, sin considerar el riesgo individual, pudiera tener un

impacto negativo en la calidad de vida, debido a la ansiedad que puede generar un posible diagnóstico de cáncer o al hecho de estar vinculado permanentemente al sistema sanitario. También se menciona la incertidumbre derivada de los falsos positivos en las pruebas de cribado, que conlleva la realización de pruebas de forma repetida e incluso llevar a cabo procedimientos invasivos<sup>130</sup>. Sin embargo, en la actualidad, las guías europeas de manejo de la hepatitis C y CHC siguen recomendando el cribado de CHC en todos los pacientes con fibrosis avanzada y cirrosis hepática<sup>9,82</sup>.

Debido a que la enfermedad hepática avanzada compensada se considera un proceso continuo en el que a veces es difícil diferenciar la fibrosis avanzada de la cirrosis, y que esta última es el factor de riesgo más importante para el desarrollo de CHC, parece necesario disponer de herramientas capaces de evaluar el riesgo individual de los pacientes curados con enfermedad hepática avanzada compensada (c-ACLD). Este término, introducido por primera vez en Baveno VI<sup>118</sup>, es especialmente útil en la era de los antivirales de acción directa, en la que las pruebas no invasivas (PNI) son las que mayoritariamente se han utilizado para la estadificación de la enfermedad hepática. En la reunión de Baveno VII se sugieren los puntos de corte de rigidez hepática de 10 y 15 kPa, para considerar el diagnóstico posible o seguro de c-ACLD, respectivamente<sup>115</sup>. Por tanto, es posible que los parámetros clínicos y de imagen, así como la combinación de métodos no invasivos de evaluación de la fibrosis hepática, evaluados basalmente y durante el seguimiento tras la RVS pudieran ayudar a precisar el grado de lesión hepática y, especialmente a optimizar los programas de cribado.

En este sentido, los resultados de la presente tesis permiten, a través de la descripción de dos modelos fácilmente obtenibles y basados en parámetros no invasivos, estimar el riesgo individual de presentar hepatocarcinoma, lo que podría optimizar los programas de cribado. Con la aplicación de estos modelos se logra identificar a un subgrupo de pacientes (aproximadamente un 20% de la cohorte total) que, a pesar de cumplir con los criterios actualmente recomendados de seguimiento indefinido, tenían un riesgo muy bajo de desarrollo de CHC durante los primeros 3 años de seguimiento. La albúmina y la rigidez hepática basal medida mediante Fibroscan, así como el porcentaje de reducción de esta última un

año tras el final del tratamiento (Delta Fibroscan), se asociaron de forma independiente al desarrollo de CHC. Llamativamente, ninguno de los pacientes en los que no existían estos factores predictivos, (es decir, aquellos con un Fibroscan basal inferior a 17.3kPa, un delta Fibroscan superior al 25.5%, y una albúmina basal superior a 4.2g/dL), desarrolló CHC tras una mediana de seguimiento de 45 meses desde el inicio del tratamiento.

De forma similar, el modelo basado en FIB-4, que es especialmente útil y de fácil aplicabilidad dado que se fundamenta en parámetros obtenidos en análisis rutinarios, demostró similar capacidad predictiva. Con este modelo, se identificó un grupo de pacientes de bajo riesgo (FIB-4 basal inferior a 3.7, FIB-4 1 año inferior a 3.3, albúmina basal superior a 4.2 g/dL y GGT al año de seguimiento inferior a 42UI/L), en el que se observó una incidencia de CHC de 0.4% en 45 meses de seguimiento, muy por debajo de lo que se considera coste-efectivo.

Ambos modelos se derivan de una gran cohorte multicéntrica de pacientes y poseen varias fortalezas como son su elevada capacidad pronóstica, mantenida a lo largo del tiempo (como corroboran las áreas bajo la curva de las curvas ROC dependientes del tiempo), su plausibilidad biológica (las variables incluidas se relacionan claramente con la biología de la enfermedad en estudio) y su carácter “parsimonioso” (incluye un número pequeño de variables, además fácilmente obtenibles). Todo ello confiere a los modelos descritos una importante aplicabilidad

Los resultados sugieren que las características de los pacientes en el momento de iniciar el tratamiento son determinantes para realizar una correcta estratificación del riesgo, lo cual ha sido similarmente comunicado en la literatura. Así, la rigidez hepática inicial estimada mediante Fibroscan se ha relacionado con la aparición de CHC tras la RVS en otros estudios. En uno de ellos, realizado en 398 pacientes japoneses, tener una rigidez hepática basal >20 kPa se asoció con la aparición de CHC tras la RVS. Los autores de este estudio observaron, además, que presentar una rigidez hepática > 10 kPa a las 24 semanas post tratamiento era un factor de riesgo independiente para la aparición de CHC *de novo* <sup>140</sup>. De forma similar en un

estudio realizado en Dinamarca, un punto de corte de rigidez de 17.5 kPa permitió identificar a los pacientes con un mayor riesgo de CHC tras la curación<sup>141</sup>.

Otro aspecto relevante de los modelos descritos es la importancia de los cambios observados en los diferentes parámetros a lo largo de los primeros meses de evolución tras el tratamiento. Este hecho tiene igualmente una gran plausibilidad biológica pues representa o bien la velocidad a la que se atenúa la fibrosis o bien la desaparición de la actividad inflamatoria. Los resultados presentados en la tesis son consistentes con lo publicado previamente en relación con los cambios dinámicos en la elastografía hepática. Un estudio reciente demostró que una reducción superior al 30% al final del tratamiento se asociaba con un menor riesgo de desarrollar CHC al año de finalizar el tratamiento antiviral<sup>125</sup>. Otros estudios, sin embargo, no han relacionado la mejoría de la rigidez hepática con el desarrollo de CHC en pacientes con c-ACLD<sup>126</sup>, apoyando las recomendaciones actuales de seguimiento indefinido tras la RVS en este grupo de pacientes. Hay que tener en cuenta que la disminución de la rigidez de forma precoz se ha puesto en relación con la mejoría de la necroinflamación tras la erradicación viral, y no tanto con una disminución de la intensidad de la fibrosis <sup>142,143</sup>.

En este sentido se ha publicado un metaanálisis en el que se evalúa la cinética de reducción de la rigidez hepática tras la RVS tanto en los pacientes tratados con interferón como en aquellos que recibieron antivirales de acción directa. En esta revisión se pudo observar que casi la mitad de los pacientes inicialmente diagnosticados de enfermedad con fibrosis avanzada (rigidez superior a 9.5kPa) presentaban una mejoría tras la RVS, con un descenso de la rigidez por debajo de dicho umbral, sobre todo en aquellos casos con una marcada elevación de los parámetros de inflamación y en los pacientes tratados con fármacos de acción directa, en comparación con los tratados con regímenes basados en interferón<sup>144</sup>.

Otro aspecto por considerar es la velocidad en la reducción de los parámetros analizados. En el presente estudio, la media de descenso de la rigidez hepática durante el primer año fue de 6.7 kPa siendo sólo de 1.6 kPa entre el primer y el tercer año tras la RVS. El FIB-4 tuvo un comportamiento similar con una media de

descenso durante el primer año de 1.62 frente 0.25 entre el primer y el tercer año tras la RVS. Estos datos coinciden con diferentes estudios que han evaluado esta evolución a través del tiempo y que indican que, tras un descenso inicial marcado de la rigidez hepática, los cambios posteriores son más lentos <sup>112-114,144</sup>, sugiriendo que la mejoría inicial corresponde a la resolución de la inflamación, y el descenso más lentamente progresivo tras la RVS correspondería a la reducción de la fibrosis hepática.

La biopsia hepática para la evaluación de la fibrosis del órgano tras la RVS ha sido desplazada en los últimos años por los marcadores no invasivos de fibrosis. Sin embargo, la disminución de la rigidez hepática no supone la desaparición de la cirrosis en pacientes con enfermedad hepática avanzada compensada. A pesar de esto, la Asociación Americana de Gastroenterología, recomienda que los pacientes con infección crónica por VHC que obtienen RVS y que presenten una rigidez hepática tras el tratamiento inferior a 9,5 kPa, sean considerados como pacientes sin fibrosis avanzada en los que puede valorarse el alta de atención especializada, a pesar de la escasa información que sustenta esta recomendación<sup>145</sup>. De hecho, diferentes estudios han demostrado que la cirrosis hepática puede persistir tras la RVS<sup>99,110,146</sup>. En un estudio multicéntrico publicado en 2021<sup>146</sup>, en el que se incluyeron 746 pacientes con diagnóstico de c-ACLD por VHC, y diseñado con el objetivo de evaluar la precisión diagnóstica de los métodos no invasivos de fibrosis hepática tras la RVS, se realizó biopsia hepática a un 10% de los pacientes 3 años post tratamiento. Llamativamente, se pudo observar que el 53,9% de los pacientes presentaban datos histológicos de cirrosis hepática y que casi el 30% de los pacientes con rigidez hepática inferior a 8 kPa eran pacientes cirróticos. Igualmente, se observaron resultados similares con los marcadores serológicos (APRI y FIB-4) 3 años después del tratamiento, corroborando la poca precisión de los métodos no invasivos en el diagnóstico de fibrosis avanzada o cirrosis tras la RVS. Sin embargo, el último documento de la conferencia de consenso de Baveno<sup>115</sup> sugiere que los pacientes con c-ACLD que mantienen de forma constante valores de rigidez hepática inferiores a 12kPa tras las RVS, presentan una baja probabilidad de descompensación, a pesar de lo cual recomienda mantener el cribado de CHC en este grupo de pacientes.

Por tanto, el riesgo de descompensación y de aparición de otras complicaciones a pesar de la mejoría de los marcadores no invasivos de fibrosis persiste tras la RVS en muchos pacientes<sup>147</sup>, por lo que la utilización de los cambios dinámicos durante el seguimiento, en combinación con otras variables de partida, pudiera ser una mejor estrategia para identificar a los pacientes con menor grado de lesión hepática y en consecuencia menor riesgo de CHC, tal como indican los presentes resultados.

En este sentido, ya en 2018 Ioannou y col<sup>148</sup> proponían un modelo de riesgo individual de CHC basado en las características iniciales de los pacientes, diferenciando entre pacientes con cirrosis establecida (descompensación hepática o signos de HTP) por VHC y pacientes sin cirrosis hepática. En un estudio posterior los autores introdujeron la evolución de determinados marcadores no invasivos de la fibrosis hepática (FIB-4) para intentar mejorar la estratificación del riesgo tras la RVS, mostrando que los pacientes con FIB-4 pre- y post tratamiento inferior a 3,25, tuvieron un riesgo bajo de CHC tras la RVS<sup>5</sup>, especialmente entre aquellos sin diagnóstico de cirrosis establecida. Los resultados de esta tesis concuerdan en gran medida con los de estos dos estudios en lo que respecta a las variables seleccionadas inicialmente (albúmina y componentes del FIB-4), así como sus cambios dinámicos.

Recientemente se han publicado otros estudios que combinan parámetros de laboratorio, clínicos y marcadores de fibrosis hepática similares a los utilizados en esta tesis para estratificar el riesgo de CHC tras la RVS. Uno de los modelos de riesgo más recientes ha sido sugerido por Semmler y col<sup>149</sup>, derivado a partir de una cohorte europea de más de 400 pacientes con enfermedad hepática avanzada compensada por VHC que obtuvieron RVS tras tratamiento antiviral. El modelo, que incluye la edad, la AFP inicial, la rigidez hepática y la albúmina a los 6 meses de la RVS, identificó que dos terceras partes de los pacientes presentaban bajo riesgo de CHC tras la curación virológica. Los pacientes clasificados como de bajo riesgo tenían una edad inferior a 59 años, AFP inferior a 4.6 ng/mL, un valor de rigidez hepática a los 12-48 semanas post tratamiento inferior a 19 kPa y una albúmina



inferior a 4.2 g/dL; estos enfermos presentaron una incidencia anual de CHC de 0,9%. Los resultados descritos fueron validados en una gran cohorte europea de 1.500 pacientes que incluía la cohorte de la presente tesis. Igualmente, los autores construyeron un segundo modelo en el que se excluyó la AFP al considerar que su aplicación para el cribado de CHC no está recomendado de forma rutinaria para su uso en práctica clínica y que en muchos de los pacientes no se dispuso de su determinación<sup>82</sup>. Con este modelo, los pacientes con una albúmina basal inferior a 4.2 g/dL, una edad inferior a 59 años y un valor de rigidez hepática a los 12-48 semanas post tratamiento inferior a 19kPa, presentaron igualmente una incidencia anual de CHC inferior al 1% y por tanto por debajo del umbral considerado como coste-efectivo. Además, los autores sugieren que las variables observadas durante el seguimiento presentan una mayor capacidad predictiva, posiblemente al estimar la lesión hepática de forma más precisa tras el cese de la inflamación asociado a la RVS. Sin embargo, existía mucha heterogeneidad en el momento de la realización de la elastografía y la evaluación de las variables clínicas tras el final del tratamiento, variaba entre 12 y 48 semanas tras el tratamiento lo que podría limitar la aplicabilidad global del modelo. Para evitar este problema los autores de este estudio realizaron un análisis de sensibilidad que permitía argumentar que, a pesar de la ausencia de uniformidad en el momento de realización de la elastografía, el modelo continuaba discriminando correctamente el riesgo.

Otro estudio publicado recientemente<sup>150</sup>, que combina los métodos no invasivos de fibrosis junto con la presencia de datos radiológicos de cirrosis demostró que los pacientes con FIB-4 pretratamiento superior a 3.25 y con datos morfológicos de cirrosis tenían un riesgo de CHC (8.8%; 44/498) mayor que los pacientes con una rigidez inicial entre 10 y 13,5 kPa o que presentaban datos morfológicos de cirrosis, pero con FIB-4 basal <3.25 (2.4%; 12/506). Los autores por tanto concluyen que el único grupo que presentaba una incidencia >1.5% anual y por lo tanto superior a lo que se considera coste-efectivo, fue el grupo de pacientes con FIB-4 basal >3.25 y criterios morfológicos de cirrosis. Sin embargo, en este estudio solo se tienen en cuenta los valores previos al tratamiento, y no los cambios dinámicos, que pueden verse afectados por la aparición de otros factores asociados a la progresión de la fibrosis hepática post-tratamiento, como la ingesta de alcohol

o la enfermedad metabólica hepática. En este sentido, una de las fortalezas del modelo propuesto en la tesis es que no se excluyeron los pacientes con enfermedad hepática metabólica ni con consumo excesivo de alcohol, lo que aumenta la validez de las estimaciones para la práctica clínica general. A pesar de que ninguna de estas covariables fue significativa en el análisis multivariante, debe señalarse que la recogida de estos factores pudiera ser heterogénea. Por tanto, en pacientes con transaminasas elevadas o en los que persisten otros factores que puedan hacer progresar la lesión hepática como la ingesta de alcohol o la presencia de MAFLD, los resultados deben ser interpretados con cautela.

Finalmente, el valor predictivo de las variables obtenidas al año de finalizar el tratamiento ha sido evaluado en un estudio español publicado en 2019, en el que se incluyeron 572 pacientes con cACLD<sup>126</sup>. En este estudio, los pacientes con una rigidez inferior a 10 kPa o con valores entre 10-20 kPa y niveles de albúmina superiores a 4.4 g/dL al año de finalizar el tratamiento antiviral, tenían una incidencia de CHC inferior al 1% anual. Conviene destacar que los autores no encontraron ninguna variable predictiva inicial.

La presencia de hipertensión portal incrementa el riesgo de complicaciones de la cirrosis hepática tras la RVS, independientemente de los marcadores no invasivos de fibrosis hepática; de hecho, se ha descrito que estas complicaciones pueden ocurrir a partir de valores de rigidez hepática superiores a 7 kPa<sup>147</sup>. En esta tesis, la presencia de signos de HTP fue un factor de riesgo para el desarrollo de CHC como se ha demostrado también en otros estudios: así, solo el 0,2% del subgrupo de pacientes de muy bajo riesgo (Fibroscan basal inferior a 17.3kPa, delta Fibroscan superior a 25.5%, albúmina basal superior a 4.2g/dL) presentaban signos de HTP. Este dato no es sorprendente dado que la presencia de HTP clínicamente significativa con valores rigidez hepática inferiores a 20 kPa es excepcional<sup>115</sup>. Otros estudios también han encontrado asociación entre la presencia de hipertensión portal y el riesgo de CHC, aunque la definición de HTP fue heterogénea, utilizando valores de rigidez superiores a 20kPa, datos clínicos, GPVH superior a 10mmHg o una combinación de signos radiológicos<sup>151</sup>.

Nuestros resultados son también coherentes con los de otros estudios que han utilizado marcadores indirectos relacionados con la enfermedad hepática como la albúmina<sup>152-154</sup> y las plaquetas<sup>152,155,156</sup>, asociados ambos de forma independiente a la aparición de CHC. En una gran cohorte italiana se identificaron las plaquetas al inicio del tratamiento inferiores a 120.000/microL, la rigidez superior a 25-30 kPa, el sexo masculino, la diabetes mellitus, la puntuación FIB-4 superior a 9 y la albúmina inferior a 3.5g/dL como factores de alto riesgo de desarrollo de CHC tras la RVS<sup>123,152,156,157</sup>. De hecho, en el estudio realizado por Lleo y col<sup>123</sup>, el subgrupo de pacientes con plaquetas por encima de 110.000/microL y con una rigidez hepática inferior a 25kPa presentaron una incidencia de CHC inferior al 0.5% anual, y por lo tanto podrían no necesitar seguimiento a largo plazo. Sin embargo, el tiempo de seguimiento de estos pacientes, tan solo 12 meses tras la RVS, no permite realizar una recomendación formal.

Otro modelo predictivo recientemente validado es la puntuación aMAP<sup>158</sup>, que incluye parámetros clínicos y de laboratorio como el índice albúmina-bilirrubina, las plaquetas, la edad y el sexo. Esta puntuación, que ha sido validada en pacientes cirróticos de diferentes etiologías en 11 estudios prospectivos de ámbito mundial, permite identificar pacientes de alto riesgo de desarrollo de CHC (aMAP superior a 60) a 5 años, independientemente de la etiología de la enfermedad hepática y de la raza.

Se ha demostrado que existen factores relacionados con los pacientes, modificables o no, que pueden aumentar el riesgo de CHC tras la RVS. Factores no modificables como la edad<sup>123,155,156,159,160</sup> y el sexo<sup>157,159-162</sup>, no se asociaron a CHC de forma significativa en nuestro estudio. Sin embargo, el grupo de pacientes que desarrolló CHC tenía una edad media superior al grupo de pacientes sin CHC (66 vs 61 años;  $p=0,06$ ), y eran predominantemente varones (65%,  $p=0,14$ ). En cuanto a las variables modificables, Kanwal y col<sup>69</sup> identificaron a la DM como un factor de riesgo independiente asociado al desarrollo de CHC. En la presente tesis no se ha observado dicha relación, a pesar de que el 22% de los pacientes del grupo de CHC eran pacientes diabéticos ( $p=0,24$ ). Sin embargo, se ha observado que la elevación de GGT al año post tratamiento (por encima de 42 UI/L) sí se asocia de forma independiente al desarrollo de CHC, lo que podría traducir una alteración

metabólica subyacente. Es conveniente recordar que solo el 6% de los pacientes incluidos estaban infectados por el genotipo 3, relacionado directamente con el desarrollo de IR y diabetes mellitus tipo 2. Otro aspecto a tener en cuenta es que, al tratarse de un estudio retrospectivo, no se pudieron recoger variables relacionadas con el diagnóstico de síndrome metabólico ni datos antropométricos en muchos pacientes, pudiendo esto influir en los resultados tal y como se mencionó previamente.

Otro de los factores de riesgo independiente en la aparición de CHC tras la RVS identificados en esta tesis, y que es concordante con otros estudios, es la ingesta perjudicial de alcohol. El estrés oxidativo inducido por el alcohol y el metabolismo hepático del etanol podrían aumentar la conversión de pro-carcinógenos en carcinógenos activos inductores de la aparición de CHC<sup>163</sup>. Además, se ha demostrado que el alcohol actúa sinérgicamente con el VHC aumentando el riesgo de progresión de la cirrosis y sus complicaciones<sup>164</sup>, por lo que el consumo perjudicial tras la RVS es un factor que puede inducir inflamación crónica y progresión de la fibrosis hepática<sup>69,149,155</sup>. Como se ha mencionado previamente, se han construido índices de riesgo incluyendo esta variable como agravante en el riesgo de CHC tras la RVS<sup>149</sup>. En el presente trabajo no se incluyó el consumo activo de alcohol en el modelo por la dificultad para obtener un valor fiable de este concepto a lo largo del tiempo o en diferentes hospitales o países.

Para validar los resultados de la cohorte global y evaluar la capacidad predictiva de los índices de riesgo a largo plazo, se actualizó el seguimiento en un subgrupo de 535 pacientes (53.8% de la cohorte global), y se recogieron los eventos hepáticos que se presentaron desde la finalización del estudio en noviembre de 2019 hasta agosto de 2021. Tras una mediana de seguimiento de 54 meses (13-62 meses) a partir de cumplirse 1 año tras el fin de tratamiento antiviral, 48 pacientes desarrollaron CHC (8.9%). Las características basales de la cohorte de mayor seguimiento fueron similares a las de la cohorte global.

En esta cohorte el riesgo de CHC persiste a largo plazo con una incidencia anual (IA) del 6 y 6,33% en el grupo de alto riesgo según el modelo basado en Fibroscan

y FIB-4 respectivamente, y  $<0,5\%$  anual en el grupo de menor riesgo de CHC, con ambos modelos. La persistencia de riesgo a largo plazo coincide con el estudio de Ioannou y col<sup>5</sup> que muestra un riesgo de CHC mantenido incluso 10 años tras la RVS en pacientes con cirrosis hepática. Según los resultados de nuestra tesis también los pacientes de riesgo bajo (score 1 según el modelo A o score 2-3 en el modelo B), mantuvieron una incidencia anual de CHC  $<1,5$  por 100 pacientes/años y por tanto en ellos, el cribado podría no considerarse coste-efectivo. Sin embargo, como se ha mencionado previamente, si se tiene en cuenta la mejoría en la supervivencia<sup>4,165</sup>, una menor incidencia de riesgo de descompensación de la enfermedad hepática<sup>4,66,73</sup> y de CHC tras la RVS<sup>45,68,69,166</sup>, y los avances en el tratamiento del cáncer hepático, el umbral para considerar las estrategias de cribado coste-efectivas deba ser menor, y se ha sugerido un valor de corte más conservador, alrededor del 1% de incidencia anual, como posiblemente coste-efectivo en la actualidad<sup>78</sup>. El estudio de coste-efectividad presentado por Farhang Zangneh et al<sup>120</sup> sugiere que los pacientes con cirrosis hepática y con IA anual  $>1,3\%$  deben ser considerados para mantener seguimiento “indefinido” al ser el único grupo en el que las estrategias de cribado son coste efectivas, sugiriendo no mantener el cribado en los pacientes con fibrosis avanzada. Sin embargo, algunos de estos pacientes podrían mantener un riesgo alto de desarrollo de CHC, debido a la dificultad para distinguir a los pacientes con fibrosis avanzada y cirrosis al ser la lesión hepática un proceso continuo, y a la posibilidad de que exista una infraestimación o sobreestimación del grado de fibrosis hepática con las pruebas no invasivas.

En cualquier caso, nuestros modelos de riesgo basados en marcadores no invasivos de fibrosis hepática continúan prediciendo el riesgo de hepatocarcinoma a lo largo del tiempo. Un aspecto relevante es que, al aumentar el tiempo de seguimiento, solo los pacientes con una puntuación más baja tanto en el modelo basado en la rigidez hepática (modelo A) como en el basado en el FIB-4 (modelo B) mantenían un riesgo anual de CHC  $<0,5$  por 100 pacientes/año, similar al que predicen los modelos en la cohorte global y que es muy inferior al 1.5%, punto de corte considerado como coste-efectivo para recomendar seguimiento. Sin embargo, en el grupo de pacientes con bajo riesgo la incidencia anual de CHC

aumenta al compararlo con la cohorte global (0,61 vs 1,41 con el modelo A; 0,49 vs 1,47 con el modelo B). A pesar de que el riesgo continúa siendo <1,5% anual, este se ha incrementado con el paso del tiempo, y como se ha discutido previamente el punto de corte de coste-efectividad deba redefinirse en estudios que tengan en cuenta los cambios introducidos en los últimos años.

Una de las ventajas de los modelos es su fácil aplicabilidad en práctica clínica, con la inclusión de variables sencillas utilizadas de forma habitual en las consultas de hepatología y permitiendo diferentes formas de estimación de la fibrosis hepática, pudiendo calcularse incluso años después de la curación de la infección por el VHC. El tiempo de seguimiento es otra de las fortalezas de esta tesis. Como se mencionó previamente, en el año 2015 se aprobó el uso de AAD en España, dando prioridad a los pacientes con enfermedad hepática más avanzada según el Plan Estratégico Nacional; por este motivo, muchos de los pacientes recientemente actualizados tienen un tiempo de seguimiento prolongado, comprobando que ambos modelos siguen discriminando correctamente el riesgo de CHC a lo largo del tiempo.

La definición de la población estudiada es otros de los puntos relevantes de esta tesis, ya que se ha intentado incluir de forma homogénea a los pacientes con fibrosis avanzada y cirrosis compensada, excluyendo a los pacientes con diagnóstico de CHC durante el primer año tras la RVS, para evitar la inclusión de aquellos con lesiones malignas/premalignas no diagnosticados correctamente antes del tratamiento, y en los que probablemente la RVS no modifique el riesgo de CHC. Además, la población incluida proporciona una aproximación más realista al escenario de cribado de CHC a medio y largo plazo en nuestro medio teniendo en cuenta que estos datos se basan en una gran cohorte multicéntrica de 8 hospitales madrileños, que representan más del 60% de los pacientes tratados de la región.

Desde el punto de vista metodológico, se desarrollaron estrategias de modelos integrales, que incluye técnicas de *bootstrapping* para asegurar la validez interna y el análisis de las curvas ROC dependiente del tiempo para confirmar la capacidad predictiva de las variables incluidas a lo largo del tiempo. Esto es importante considerando el hecho de que el riesgo de CHC puede persistir hasta 10 años

después de la erradicación del VHC en pacientes con cirrosis hepática o fibrosis avanzada, como se ha mencionado previamente.

Los resultados de la presente tesis no están exentos de limitaciones. Al obtener datos de una cohorte retrospectiva, no pudieron recogerse en muchos casos variables como el IMC, la presencia de síndrome metabólico y la cantidad de alcohol que consumían los pacientes, lo que podría inducir sesgo en la estimación de los factores predictivos. Dado que estos factores contribuyen a la progresión de la lesión hepática, estos pacientes deben ser monitorizados para valorar de forma individual la evolución de la fibrosis y su impacto en la predicción en el riesgo de CHC tras la RVS.

También debemos mencionar que los modelos solo incluyen las variables asociadas a la fibrosis y cirrosis hepática, excluyendo de esta forma otras variables implicadas en la carcinogénesis en pacientes con infección por VHC. Como ha demostrado el estudio publicado por Hamdane y col<sup>88</sup>, la infección por VHC puede inducir cambios en los genes y alteraciones en el ARN mensajero, histonas y proteínas que pueden afectar la expresión de oncogenes y genes supresores de tumor, y que dichos cambios pueden persistir incluso tras la RVS.

Por otra parte, la regresión de la lesión hepática no solo tiene que ver con la disminución de la fibrosis. Existen cambios en la vascularización y en la arquitectura hepática que son difícilmente reversibles y que pueden estar implicados en fenómenos de hipoxia y predisposición al cáncer hepático<sup>102</sup>. Además, el factor de crecimiento del endotelio vascular (*vascular endothelial growth factor*) está relacionado con la angiogénesis y la proliferación celular en el cáncer hepático. Villani y col<sup>167</sup> han demostrado un aumento del VEGF tras la terapia con AAD en pacientes con cirrosis hepática. En este sentido, la utilización de biomarcadores circulantes parece ser una herramienta prometedora para una mejor estratificación del riesgo de CHC tras la RVS<sup>168,169</sup>. De hecho, un estudio que incluye un panel de biomarcadores (GALAD score) permite una detección precoz de CHC en pacientes con hepatopatía crónica de origen viral<sup>170</sup>, aunque recientemente se ha demostrado su aplicabilidad en otras etiologías. En un estudio

de casos y controles en pacientes con enfermedad hepática metabólica, los pacientes que desarrollaron CHC durante el seguimiento, presentaron un GALAD score mayor que en aquellos que no lo desarrollaron, incluso 1.5 años antes del diagnóstico<sup>171</sup>.

La inteligencia artificial también ha demostrado su aplicabilidad en este campo; de hecho, en 2013 Singal y col<sup>172</sup>, ya introducían que el uso de algoritmos inteligentes mejoraba la estratificación de riesgo de CHC en pacientes con cirrosis hepática por VHC, comparado con el análisis convencional de regresión logística. De forma similar diferentes autores elaboraron algoritmos basados en árbol de decisiones por inteligencia artificial, con el objetivo de predecir de forma más precisa el riesgo de CHC en los pacientes con cirrosis por VHC demostrando su uso en términos de coste efectividad mejorando de esta forma las estrategias de cribado en los pacientes con hepatopatía crónica por VHC <sup>173,174</sup>.

La combinación de modelos de riesgo con biomarcadores, paneles genéticos y moleculares e incluso la aplicación de la inteligencia artificial, podrían ser la mejor estrategia en un futuro no muy lejano para la estratificación del riesgo individual, que no solamente será coste-efectivo, sino que mejorará la supervivencia y calidad de vida de los pacientes curados.

En resumen, la presente tesis demuestra que la aplicación de dos modelos sencillos basados en métodos no invasivos de fibrosis hepática, calculados tanto antes como al año del tratamiento, permite estratificar el riesgo de CHC e identificar un subgrupo de pacientes con fibrosis avanzada y cirrosis compensada asociada al VHC y RVS, con muy bajo riesgo de CHC, que se mantiene tras 5 años de seguimiento y que por tanto podrían ser excluidos de los programas de cribado.



## **CONCLUSIONES:**

1. El riesgo de hepatocarcinoma tras la erradicación de la infección viral en pacientes con hepatopatía crónica avanzada asociada a virus de la hepatitis C, es variable, y la realización de estrategias de cribado debería adaptarse a la estimación del riesgo individual.
2. La aplicación de dos modelos basados en pruebas no invasivas sencillas y fácilmente aplicables, permite estratificar el riesgo de hepatocarcinoma en esta población.
3. La aplicación de estos dos modelos permite optimizar los programas de vigilancia epidemiológica para que sean coste-efectivos.
4. La presencia de factores que puedan contribuir a la progresión de la fibrosis hepática tras la respuesta viral sostenida, como la ingesta perjudicial de alcohol o la presencia de síndrome metabólico, posiblemente debe ser tomada en cuenta de forma individual.
5. Los modelos siguen siendo válidos en la predicción de hepatocarcinoma a largo plazo, sin embargo, un seguimiento más prolongado contribuirá a confirmar su utilidad en la estimación del riesgo tras la erradicación de la infección viral, sobre todo en los pacientes de muy bajo riesgo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pawlotsky J-ME Al. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2015. *J Hepatol* 2014;61:373-395.
2. D'Ambrosio R, Della Corte C, Colombo M. Hepatocellular carcinoma in patients with a sustained response to anti-hepatitis C therapy. *Int J Mol Sci* 2015;16:19698-19712.
3. Morgan RL, Baack B, Smith BD, et al. Eradication of hepatitis C virus infection and the development of hepatocellular carcinoma: A meta-analysis of observational studies. *Ann Intern Med* 2013;158:329-337.
4. Nahon P, Bourcier V, Layese R, et al. Eradication of Hepatitis C Virus Infection in Patients With Cirrhosis Reduces Risk of Liver and Non-Liver Complications. *Gastroenterology* 2017;152:142-156.e2.
5. Ioannou GN, Beste LA, Green PK, et al. Increased Risk for Hepatocellular Carcinoma Persists Up to 10 Years After HCV Eradication in Patients With Baseline Cirrhosis or High FIB-4 Scores. *Gastroenterology* 2019;157:1264-1278.e4.
6. Pawlotsky JM, Negro F, Aghemo A, et al. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol* 2018;69:461-511.
7. Ghany MG, Morgan TR. Hepatitis C Guidance 2019 Update: American Association for the Study of Liver Diseases–Infectious Diseases Society of America Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C Virus Infection. *Hepatology* 2020;71:686-721.
8. Chen Q, Ayer T, Adee MG, et al. Assessment of Incidence of and Surveillance Burden for Hepatocellular Carcinoma among Patients with Hepatitis C in the Era of Direct-Acting Antiviral Agents. *JAMA Netw Open* 2020;3.
9. Pawlotsky JM, Negro F, Aghemo A, et al. EASL recommendations on treatment of hepatitis C: Final update of the series☆. *J Hepatol* 2020;73.
10. Ghany MG, Morgan TR. Hepatitis C Guidance 2019 Update: American Association for the Study of Liver Diseases–Infectious Diseases Society of America Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C Virus Infection. *Hepatology* 2020;71:686-721.
11. World Health Organization. Global hepatitis report 2017. 2017.
12. Polaris Observatory HCV Collaborators. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2017;2:161-176.
13. Ansaldi F. Hepatitis C virus in the new era: Perspectives in epidemiology, prevention, diagnostics and predictors of response to therapy. *World J Gastroenterol* 2014;20:9633.
14. Dubuisson J, Cosset F-L. Virology and cell biology of the hepatitis C virus life cycle: an update. *J Hepatol* 2014;61:S3-S13.
15. Gale M, Foy EM. Evasion of intracellular host defence by hepatitis C virus. *Nature* 2005;436:939-945.
16. Armstrong GL. Commentary: Modelling the epidemiology of hepatitis C and its complications. *Int J Epidemiol* 2003;32:725-726.
17. Pawlotsky JM, Tsakiris L, Roudot-Thoraval F, et al. Relationship between hepatitis C virus genotypes and sources of infection in patients with chronic hepatitis C. *J Infect Dis* 1995;171:1607-1610.

18. Alter HJ, Purcell RH, Shih JW, et al. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med* 1989;321:1494-1500.
19. Kuo G, Choo QL, Alter HJ, et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 1989;244:362-364.
20. Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan O V, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med* 1999;341:556-562.
21. Gower E, Estes C, Blach S, et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2014;61.
22. Simmonds P, Bukh J, Combet C, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 2005;42:962-973.
23. Smith DB, Bukh J, Kuiken C, et al. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology* 2014;59:318-327.
24. Gower E, Estes C, Blach S, et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2014;61:S45-57.
25. Lingala S, Ghany MG. Natural History of Hepatitis C. *Gastroenterol Clin North Am* 2015;44:717-734.
26. Fernández Rodríguez CM, Gutierrez Garcia ML. [Impact of antiviral therapy on the natural history of hepatitis C virus]. *Gastroenterol Hepatol* 2014;37:583-592.
27. Wang CC, Krantz E, Klarquist J, et al. Acute hepatitis C in a contemporary US cohort: modes of acquisition and factors influencing viral clearance. *J Infect Dis* 2007;196:1474-1482.
28. Thomas DL, Astemborski J, Rai RM, et al. The natural history of hepatitis C virus infection: host, viral, and environmental factors. *JAMA* 2000;284:450-456.
29. Westbrook RH, Dusheiko G. Natural history of hepatitis C. *J Hepatol* 2014;61:S58-S68.
30. Tong MJ, el-Farra NS, Reikes AR, et al. Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C. *N Engl J Med* 1995;332:1463-1466.
31. Yano M, Kumada H, Kage M, et al. The long-term pathological evolution of chronic hepatitis C. *Hepatology* 1996;23:1334-1340.
32. Poynard T, Colombo M, Bruix J, et al. Peginterferon alfa-2b and ribavirin: effective in patients with hepatitis C who failed interferon alfa/ribavirin therapy. *Gastroenterology* 2009;136:1618-28.e2.
33. Wiese M, Berr F, Lafrenz M, et al. Low frequency of cirrhosis in a hepatitis C (genotype 1b) single-source outbreak in germany: a 20-year multicenter study. *Hepatology* 2000;32:91-96.
34. Kenny-Walsh E. The natural history of hepatitis C virus infection. *Clin Liver Dis* 2001;5:969-977.
35. Thein H-H, Yi Q, Dore GJ, et al. Estimation of stage-specific fibrosis progression rates in chronic hepatitis C virus infection: a meta-analysis and meta-regression. *Hepatology* 2008;48:418-431.
36. Harris HE, Ramsay ME, Andrews N, et al. Clinical course of hepatitis C virus during the first decade of infection: cohort study. *BMJ* 2002;324:450-453.

37. Deuffic-Burban S, Poynard T, Valleron A-J. Quantification of fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C using a Markov model. *J Viral Hepat* 2002;9:114-122.
38. Adinolfi LE, Gambardella M, Andreana A, et al. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific HCV genotype and visceral obesity. *Hepatology* 2001;33:1358-1364.
39. Delgado-Borrego A, Jordan SH, Negre B, et al. Reduction of insulin resistance with effective clearance of hepatitis C infection: results from the HALT-C trial. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010;8:458-462.
40. Kim HJ, Park JH, Park D Il, et al. Clearance of HCV by Combination Therapy of Pegylated Interferon alpha-2a and Ribavirin Improves Insulin Resistance. *Gut Liver* 2009;3:108-115.
41. Farci P, Shimoda A, Coiana A, et al. The outcome of acute hepatitis C predicted by the evolution of the viral quasispecies. *Science* 2000;288:339-344.
42. Probst A, Dang T, Bochud M, et al. Role of hepatitis C virus genotype 3 in liver fibrosis progression--a systematic review and meta-analysis. *J Viral Hepat* 2011;18:745-759.
43. Steatosis, insulin resistance and fibrosis progression in chronic hepatitis C - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16557184/>. Accessed January 8, 2022.
44. Kanwal F, Kramer JR, Ilyas J, et al. HCV genotype 3 is associated with an increased risk of cirrhosis and hepatocellular cancer in a national sample of U.S. Veterans with HCV. *Hepatology* 2014;60:98-105.
45. El-Serag HB, Kanwal F, Richardson P, et al. Risk of hepatocellular carcinoma after sustained virological response in Veterans with hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2016;64:130-137.
46. M G, F B, G L, et al. Fibrosis in Chronic Hepatitis C Acquired in Infancy: Is It Only a Matter of Time? *Am J Gastroenterol* 2003;98.
47. K O, O Y. Natural History of Chronic Hepatitis C in Patients on Hemodialysis: Case Control Study With 4-23 Years of Follow-Up. *World J Gastroenterol* 2004;10.
48. Alberti A, Benvegnù L, Boccato S, et al. Natural history of initially mild chronic hepatitis C. *Dig Liver Dis* 2004;36:646-654.
49. 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;29:1311-1316.
50. Seeff LB. Natural history of chronic hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S35-46.
51. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Management of hepatitis C: 2002--June 10-12, 2002. *Hepatology* 2002;36.
52. Hoofnagle JH, Mullen KD, Jones DB, et al. Treatment of Chronic Non-A, Non-B Hepatitis with Recombinant Human Alpha Interferon. *New England Journal of Medicine* 1986;315:1575-1578.
53. Hagiwara H, Hayashi N, Mita E, et al. Detection of hepatitis C virus RNA in serum of patients with chronic hepatitis C treated with interferon- $\alpha$ . *Hepatology* 1992;15:37-41.

54. Mchutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *New England Journal of Medicine* 1998;339:1485-1492.
55. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, et al. Randomised trial of interferon  $\alpha$ 2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon  $\alpha$ 2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *Lancet* 1998;352:1426-1432.
56. Reichard O, Norkrans G, Frydén A, et al. Randomised, double-blind, placebo-controlled trial of interferon  $\alpha$ -2b with and without ribavirin for chronic hepatitis C. *Lancet* 1998;351:83-87.
57. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: A randomised trial. *Lancet* 2001;358:958-965.
58. Fried MW, Shiffman ML, Rajender Reddy K, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *New England Journal of Medicine* 2002;347:975-982.
59. Mutimer D, Aghemo A, Diepolder H, et al. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2014;60:392-420.
60. Jensen DM. A new era of hepatitis C therapy begins. *N Engl J Med* 2011;364:1272-1274.
61. Salmerón J, Vinaixa C, Berenguer R, et al. Effectiveness and safety of first-generation protease inhibitors in clinical practice: Hepatitis C virus patients with advanced fibrosis. *World J Gastroenterol* 2015;21:9163-9174.
62. Pawlotsky JM, Aghemo A, Back D, et al. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2015. *J Hepatol* 2015;63:199-236.
63. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2016. *J Hepatol* 2017;66:153-194.
64. Pawlotsky JM, Negro F, Aghemo A, et al. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol* 2018;69:461-511.
65. Nacional De Salud S. Plan Estratégico para el Abordaje de la Hepatitis C en Octubre 2020.
66. El-Sherif O, Jiang ZG, Tapper EB, et al. Baseline Factors Associated With Improvements in Decompensated Cirrhosis After Direct-Acting Antiviral Therapy for Hepatitis C Virus Infection. *Gastroenterology* 2018;154:2111-2121.e8.
67. Carrat F, Fontaine H, Dorival C, et al. Clinical outcomes in patients with chronic hepatitis C after direct-acting antiviral treatment: a prospective cohort study. *The Lancet* 2019;393:1453-1464.
68. Ioannou GN, Green PK, Berry K. HCV eradication induced by direct-acting antiviral agents reduces the risk of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2018;68:25-32.
69. Kanwal F, Kramer J, Asch SM, et al. Risk of Hepatocellular Cancer in HCV Patients Treated With Direct-Acting Antiviral Agents. *Gastroenterology* 2017;153:996-1005.e1.
70. Fernández-Rodríguez CM, Alonso S, Martínez SM, et al. Peginterferon plus ribavirin and sustained virological response in HCV-related cirrhosis: outcomes and factors predicting response. *Am J Gastroenterol* 2010;105:2164-2172.

71. van der Meer AJ, Berenguer M. Reversion of disease manifestations after HCV eradication. *J Hepatol* 2016;65:S95-S108.
72. Mazzarelli C, Carey I, Childs K, et al. Predictors of clinical improvement among HCV patients with advanced liver disease treated with DAA: a single center experience. *J Hepatol* 2018;68:S537.
73. Foster GR, Irving WL, Cheung MCM, et al. Impact of direct acting antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C and decompensated cirrhosis. *J Hepatol* 2016;64:1224-1231.
74. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet* 1997;349:825-832.
75. Finkelmeier F, Dultz G, Peiffer K-H, et al. Risk of de novo Hepatocellular Carcinoma after HCV Treatment with Direct-Acting Antivirals. *Liver Cancer* 2018;7:190-204.
76. Lleo A, Aglitti A, Aghemo A, et al. Predictors of hepatocellular carcinoma in HCV cirrhotic patients treated with direct acting antivirals. *Digestive and Liver Disease* 2019;51:310-317.
77. van der Meer AJ, Feld JJ, Hofer H, et al. Risk of cirrhosis-related complications in patients with advanced fibrosis following hepatitis C virus eradication. *J Hepatol* 2017;66:485-493.
78. Ioannou GN. HCC surveillance after SVR in patients with F3/F4 fibrosis. *J Hepatol* 2021;74:458-465.
79. Schuppan D, Ruehl M, Somasundaram R, et al. Matrix as a modulator of hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 2001;21:351-372.
80. Marcellin P, Asselah T, Boyer N. Fibrosis and disease progression in hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S47-56.
81. Jung YK, Yim HJ. Reversal of liver cirrhosis: current evidence and expectations. *Korean J Intern Med* 2017;32:213-228.
82. Galle PR, Forner A, Llovet JM, et al. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2018;69:182-236.
83. Bandiera S, Billie Bian C, Hoshida Y, et al. Chronic hepatitis C virus infection and pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *Curr Opin Virol* 2016;20:99-105.
84. Rinaldi L, Nevola R, Franci G, et al. Risk of hepatocellular carcinoma after hcv clearance by direct-acting antivirals treatment predictive factors and role of epigenetics. *Cancers (Basel)* 2020;12.
85. Ioannou GN, Green P, Lowy E, et al. Differences in hepatocellular carcinoma risk, predictors and trends over time according to etiology of cirrhosis. *PLoS One* 2018;13.
86. Hoshida Y, Villanueva A, Sangiovanni A, et al. Prognostic gene expression signature for patients with hepatitis C-related early-stage cirrhosis. *Gastroenterology* 2013;144:1024-1030.
87. Y Z. Detection of epigenetic aberrations in the development of hepatocellular carcinoma. *Methods Mol Biol* 2015;1238.
88. Hamdane N, Jühling F, Crouchet E, et al. HCV-Induced Epigenetic Changes Associated With Liver Cancer Risk Persist After Sustained Virologic Response. *Gastroenterology* 2019;156:2313-2329.e7.
89. Perez S, Kaspi A, Domovitz T, et al. Hepatitis C virus leaves an epigenetic signature post cure of infection by direct-acting antivirals. *PLoS Genet* 2019;15.

90. Hamdane N, Jühling F, Crouchet E, et al. HCV-Induced Epigenetic Changes Associated With Liver Cancer Risk Persist After Sustained Virologic Response. *Gastroenterology* 2019;156:2313-2329.e7.
91. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002;420:860-867.
92. Morse MA, Sun W, Kim R, et al. The role of angiogenesis in hepatocellular carcinoma. *Clinical Cancer Research* 2019;25:912-920.
93. Wang Y, Huang J, Tian Z, et al. The role of CXCL cytokines as biomarkers and potential targets in hepatocellular carcinoma. *Mathematical Biosciences and Engineering* 2020;17:1381-1395.
94. Hayato N, Shin M. Inflammation- and stress-related signaling pathways in hepatocarcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2012;18:4071-4081.
95. Marra M, Sordelli IM, Lombardi A, et al. Molecular targets and oxidative stress biomarkers in hepatocellular carcinoma: An overview. *J Transl Med* 2011;9.
96. Bishayee A. The role of inflammation in liver cancer. *Adv Exp Med Biol* 2014;816:401-435.
97. Messori A, Badiani B, Trippoli S. Achieving Sustained Virological Response in Hepatitis C Reduces the Long-Term Risk of Hepatocellular Carcinoma: An Updated Meta-Analysis Employing Relative and Absolute Outcome Measures. *Clin Drug Investig* 2015;35:843-850.
98. Sun M, Kisseleva T. Reversibility of liver fibrosis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2015;39:S60-S63.
99. Wanless IR, Nakashima E, Sherman M. Regression of human cirrhosis: Morphologic features and the genesis of incomplete septal cirrhosis. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124:1599-1607.
100. Jung YK, Yim HJ. Reversal of liver cirrhosis: Current evidence and expectations. *Korean Journal of Internal Medicine* 2017;32:213-228.
101. Sherman IA, Pappas SC, Fisher MM. Hepatic microvascular changes associated with development of liver fibrosis and cirrhosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1990;258.
102. Nagula S, Jain D, Groszmann RJ, et al. Histological-hemodynamic correlation in cirrhosis - A histological classification of the severity of cirrhosis. *J Hepatol* 2006;44:111-117.
103. D'Ambrosio R, Aghemo A, Rumi MG, et al. A morphometric and immunohistochemical study to assess the benefit of a sustained virological response in hepatitis C virus patients with cirrhosis. *Hepatology* 2012;56:532-543.
104. Mauro E, Crespo G, Montironi C, et al. Portal pressure and liver stiffness measurements in the prediction of fibrosis regression after sustained virological response in recurrent hepatitis C. *Hepatology* 2018;67:1683-1694.
105. Ahumada A, Rayón L, Usón C, et al. Hepatocellular carcinoma risk after viral response in hepatitis C virus-advanced fibrosis: Who to screen and for how long? *World J Gastroenterol* 2021;27:6737-6749.
106. L C, P B. How to assess liver fibrosis in chronic hepatitis C: serum markers or transient elastography vs. liver biopsy? *Liver Int* 2011;31 Suppl 1:13-17.
107. Poynard T, Moussalli J, Munteanu M, et al. Slow regression of liver fibrosis presumed by repeated biomarkers after virological cure in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2013;59:675-683.

108. Hsu WF, Lai HC, Su WP, et al. Rapid decline of noninvasive fibrosis index values in patients with hepatitis C receiving treatment with direct-acting antiviral agents. *BMC Gastroenterol* 2019;19.
109. Dolmazashvili E, Abutidze A, Chkhartishvili N, et al. Regression of liver fibrosis over a 24-week period after completing direct-acting antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C receiving care within the national hepatitis C elimination program in Georgia: Results of hepatology clinic HEPA experience. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2017;29:1223-1230.
110. D'Ambrosio R, Aghemo A, Fraquelli M, et al. The diagnostic accuracy of Fibroscan® for cirrhosis is influenced by liver morphometry in HCV patients with a sustained virological response. *J Hepatol* 2013;59:251-256.
111. Lens S, Alvarado-Tapias E, Mariño Z, et al. Effects of All-Oral Anti-Viral Therapy on HVPg and Systemic Hemodynamics in Patients With Hepatitis C Virus-Associated Cirrhosis. *Gastroenterology* 2017;153:1273-1283.e1.
112. Facciorusso A, Del Prete V, Turco A, et al. Long-term liver stiffness assessment in hepatitis C virus patients undergoing antiviral therapy: Results from a 5-year cohort study. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)* 2018;33:942-949.
113. S C, J N, K B, et al. Liver Stiffness Decreases Rapidly in Response to Successful Hepatitis C Treatment and Then Plateaus. *PLoS One* 2016;11.
114. Lu M, Li J, Zhang T, et al. Serum Biomarkers Indicate Long-term Reduction in Liver Fibrosis in Patients With Sustained Virological Response to Treatment for HCV Infection. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2016;14:1044-1055.e3.
115. de Franchis R, Bosch J, Garcia-Tsao G, et al. Baveno VII - Renewing consensus in portal hypertension. *J Hepatol* 2022;76:959-974.
116. Castéra L, Vergniol J, Foucher J, 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.
117. Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A, et al. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005;41:48-54.
118. de Franchis R, Abraldes JG, Bajaj J, et al. Expanding consensus in portal hypertension Report of the Baveno VI Consensus Workshop: Stratifying risk and individualizing care for portal hypertension. *J Hepatol* 2015;63:743-752.
119. Marrero JA, Kulik LM, Sirlin CB, et al. Diagnosis, Staging, and Management of Hepatocellular Carcinoma: 2018 Practice Guidance by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2018;68:723-750.
120. Farhang Zangneh H, Wong WWL, Sander B, et al. Cost Effectiveness of Hepatocellular Carcinoma Surveillance After a Sustained Virologic Response to Therapy in Patients With Hepatitis C Virus Infection and Advanced Fibrosis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2019;17:1840-1849.e16.
121. Goossens N, Singal AG, King LY, et al. Cost-Effectiveness of Risk Score-Stratified Hepatocellular Carcinoma Screening in Patients with Cirrhosis. *Clin Transl Gastroenterol* 2017;8:e101.
122. Ioannou GN, Green PK, Beste LA, et al. Development of models estimating the risk of hepatocellular carcinoma after antiviral treatment for hepatitis C. *J Hepatol* 2018;69:1088-1098.



123. Lleo A, Aglitti A, Aghemo A, et al. Predictors of hepatocellular carcinoma in HCV cirrhotic patients treated with direct acting antivirals. *Digestive and Liver Disease* 2019;51:310-317.
124. Augustin S, Pons M, Maurice JB, et al. Expanding the Baveno VI criteria for the screening of varices in patients with compensated advanced chronic liver disease. *Hepatology* 2017;66:1980-1988.
125. Ravaioli F, Conti F, Brillanti S, et al. Hepatocellular carcinoma risk assessment by the measurement of liver stiffness variations in HCV cirrhotics treated with direct acting antivirals. *Digestive and Liver Disease* 2018;50:573-579.
126. Pons M, Rodríguez-Tajes S, Esteban JI, et al. Non-invasive prediction of liver-related events in patients with HCV-associated compensated advanced chronic liver disease after oral antivirals. *J Hepatol* 2020;72:472-480.
127. Shiratori Y, Imazeki F, Moriyama M, et al. Histologic improvement of fibrosis in patients with hepatitis C who have sustained response to interferon therapy. *Ann Intern Med* 2000;132:517-524.
128. Marcellin P, Buti M, Gane EJ et al. Five years of Treatment with Tenofovir DF for Chronic Hepatitis B Infection is Associated with Sustained Viral Suppression and Significant Regression of Histological Fibrosis and Cirrhosis. [https://www.natap.org/2011/AASLD/AASLD\\_47.htm](https://www.natap.org/2011/AASLD/AASLD_47.htm). Accessed September 6, 2021.
129. Sort P, Álvarez MA, Bargalló A, et al. Coste del cribado del hepatocarcinoma en pacientes cirróticos: Un estudio prospectivo. *Gastroenterol Hepatol* 2011;34:519-523.
130. Jepsen P, West J. We need stronger evidence for (or against) hepatocellular carcinoma surveillance. *J Hepatol* January 2021.
131. Obesidad. [https://www.who.int/es/health-topics/obesity#tab=tab\\_1](https://www.who.int/es/health-topics/obesity#tab=tab_1). Accessed August 23, 2022.
132. Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: A joint interim statement of the international diabetes federation task force on epidemiology and prevention; National heart, lung, and blood institute; American heart association; World heart federation; International atherosclerosis society; And international association for the study of obesity. *Circulation* 2009;120.
133. Management of Decompensated Cirrhosis EASL Guideline - EASL-The Home of Hepatology. <https://easl.eu/publication/management-of-decompensated-cirrhosis-guideline/>. Accessed April 14, 2020.
134. EASL. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of HCC. *J Hepatol* 2018;69.
135. Reig M, Forner A, Ávila MA, et al. Diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. Update of the consensus document of the AEEH, AEC, SEOM, SERAM, SERVEI, and SETH. *Med Clin (Barc)* 2021;156:463.e1-463.e30.
136. R: The R Project for Statistical Computing. <https://www.r-project.org/>. Accessed June 11, 2021.
137. Blanche P, Dartigues JF, Jacqmin-Gadda H. Estimating and comparing time-dependent areas under receiver operating characteristic curves for censored event times with competing risks. *Stat Med* 2013;32:5381-5397.

138. Sánchez-Azofra M, Fernández I, García-Buey ML, et al. Hepatocellular carcinoma risk in hepatitis C stage-3 fibrosis after sustained virological response with direct-acting antivirals. *Liver Int* 2021;41:2885-2891.
139. Sanduzzi-Zamparelli M, Mariño Z, Lens S, et al. Liver cancer risk after HCV cure in patients with advanced liver disease without non-characterized nodules. *J Hepatol* 2022;76:874-882.
140. Ogasawara N, Saitoh S, Akuta N, et al. Advantage of liver stiffness measurement before and after direct-acting antiviral therapy to predict hepatocellular carcinoma and exacerbation of esophageal varices in chronic hepatitis C. *Hepatol Res* 2020;50:426-438.
141. Sørholm J, Hansen JF, Mössner B, et al. Low incidence of HCC in chronic hepatitis C patients with pretreatment liver stiffness measurements below 17.5 kilopascal who achieve SVR following DAAs. *PLoS One* 2020;15.
142. Knop V, Mauss S, Goeser T, et al. Dynamics of liver stiffness by transient elastography in patients with chronic hepatitis C virus infection receiving direct-acting antiviral therapy—Results from the German Hepatitis C-Registry. *J Viral Hepat* 2020;27.
143. Wei H, Song B. Elastography for Longitudinal Assessment of Liver Fibrosis after Antiviral Therapy: A Review. 2020.
144. Singh S, Facciorusso A, Loomba R, et al. Magnitude and Kinetics of Decrease in Liver Stiffness After Antiviral Therapy in Patients With Chronic Hepatitis C: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2018;16.
145. Lim JK, Flamm SL, Singh S, et al. American Gastroenterological Association Institute Guideline on the Role of Elastography in the Evaluation of Liver Fibrosis. *Gastroenterology* 2017;152:1536-1543.
146. Broquetas T, Herruzo-Pino P, Mariño Z, et al. Elastography is unable to exclude cirrhosis after sustained virological response in HCV-infected patients with advanced chronic liver disease. *Liver Int* 2021;41:2733-2746.
147. Lee HW, Chon YE, Kim SU, et al. Predicting Liver-Related Events Using Transient Elastography in Chronic Hepatitis C Patients with Sustained Virological Response. *Gut Liver* 2016;10:429-436.
148. Ioannou GN, Green PK, Beste LA, et al. Development of models estimating the risk of hepatocellular carcinoma after antiviral treatment for hepatitis C. *J Hepatol* 2018;69:1088-1098.
149. Semmler G, Meyer EL, Kozbial K, et al. HCC risk stratification after cure of hepatitis C in patients with compensated advanced chronic liver disease. *J Hepatol* 2022;76.
150. Ampuero J, Carmona I, Sousa F, et al. A 2-Step Strategy Combining FIB-4 With Transient Elastography and Ultrasound Predicted Liver Cancer After HCV Cure. *Am J Gastroenterol* 2022;117:138-146.
151. Ogawa E, Furusyo N, Nomura H, et al. Short-term risk of hepatocellular carcinoma after hepatitis C virus eradication following direct-acting antiviral treatment. *Aliment Pharmacol Ther* 2018;47:104-113.
152. Calvaruso V, Cabibbo G, Cacciola I, et al. Incidence of Hepatocellular Carcinoma in Patients With HCV-Associated Cirrhosis Treated With Direct-Acting Antiviral Agents. *Gastroenterology* 2018;155:411-421.e4.

153. Abe K, Wakabayashi H, Nakayama H, et al. Factors associated with hepatocellular carcinoma occurrence after HCV eradication in patients without cirrhosis or with compensated cirrhosis. *PLoS One* 2020;15.
154. Degasperis E, Galmozzi E, Pelusi S, et al. Hepatic Fat-Genetic Risk Score Predicts Hepatocellular Carcinoma in Patients With Cirrhotic HCV Treated With DAAs. *Hepatology* 2020;72:1912-1923.
155. Nahon P, Layese R, Bourcier V, et al. Incidence of Hepatocellular Carcinoma After Direct Antiviral Therapy for HCV in Patients With Cirrhosis Included in Surveillance Programs. *Gastroenterology* 2018;155:1436-1450.e6.
156. Rinaldi L, Guarino M, Perrella A, et al. Role of Liver Stiffness Measurement in Predicting HCC Occurrence in Direct-Acting Antivirals Setting: A Real-Life Experience. *Dig Dis Sci* 2019;64:3013-3019.
157. Degasperis E, D'Ambrosio R, Iavarone M, et al. Factors Associated With Increased Risk of De Novo or Recurrent Hepatocellular Carcinoma in Patients With Cirrhosis Treated With Direct-Acting Antivirals for HCV Infection. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2019;17:1183-1191.e7.
158. Fan R, Papatheodoridis G, Sun J, et al. aMAP risk score predicts hepatocellular carcinoma development in patients with chronic hepatitis. *J Hepatol* 2020;73:1368-1378.
159. Ide T, Koga H, Nakano M, et al. Direct-acting antiviral agents do not increase the incidence of hepatocellular carcinoma development: a prospective, multicenter study. *Hepatol Int* 2019;13.
160. Shiha G, Waked I, Soliman R, et al. GES: A validated simple score to predict the risk of HCC in patients with HCV-GT4-associated advanced liver fibrosis after oral antivirals. *Liver Int* 2020;40:2828-2833.
161. Degasperis E, Galmozzi E, Pelusi S, et al. Hepatic Fat-Genetic Risk Score Predicts Hepatocellular Carcinoma in Patients With Cirrhotic HCV Treated With DAAs. *Hepatology* 2020;72:1912-1923.
162. Degasperis E, Galmozzi E, Facchetti F, et al. TLL1 variants do not predict hepatocellular carcinoma development in HCV cirrhotic patients treated with direct-acting antivirals. *J Viral Hepat* 2019;26.
163. Lieber CS, Seitz HK, Garro AJ, et al. Alcohol-related diseases and carcinogenesis. *Cancer Res* 1979;39.
164. Lieber CS. Mechanism of ethanol induced hepatic injury. *Pharmacol Ther* 1990;46.
165. van der Meer AJ, Veldt BJ, Feld JJ, et al. Association between sustained virological response and all-cause mortality among patients with chronic hepatitis C and advanced hepatic fibrosis. *JAMA - Journal of the American Medical Association* 2012;308:2584-2593.
166. Lok AS, Seeff LB, Morgan TR, et al. Incidence of Hepatocellular Carcinoma and Associated Risk Factors in Hepatitis C-Related Advanced Liver Disease. *Gastroenterology* 2009;136:138-148.
167. Villani R, Facciorusso A, Bellanti F, et al. DAAs Rapidly Reduce Inflammation but Increase Serum VEGF Level: A Rationale for Tumor Risk during Anti-HCV Treatment. *PLoS One* 2016;11.
168. Pascut D, Cavalletto L, Pratama MY, et al. Serum miRNA are promising biomarkers for the detection of early hepatocellular carcinoma after treatment with direct-acting antivirals. *Cancers (Basel)* 2019;11.

169. Johnson PJ, Pirrie SJ, Cox TF, et al. The detection of hepatocellular carcinoma using a prospectively developed and validated model based on serological biomarkers. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* 2014;23:144-153.
170. Yang JD, Addissie BD, Mara KC, et al. GALAD score for hepatocellular carcinoma detection in comparison with liver ultrasound and proposal of Galadus score. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* 2019;28:531-538.
171. Best J, Bechmann LP, Sowa JP, et al. GALAD Score Detects Early Hepatocellular Carcinoma in an International Cohort of Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2020;18:728-735.e4.
172. Singal AG, Mukherjee A, Joseph Elmunzer B, et al. Machine learning algorithms outperform conventional regression models in predicting development of hepatocellular carcinoma. *American Journal of Gastroenterology* 2013;108:1723-1730.
173. Ioannou GN, Tang W, Beste LA, et al. Assessment of a Deep Learning Model to Predict Hepatocellular Carcinoma in Patients With Hepatitis C Cirrhosis. *JAMA Netw Open* 2020;3:e2015626.
174. Audureau E, Carrat F, Layese R, et al. Personalized surveillance for hepatocellular carcinoma in cirrhosis - using machine learning adapted to HCV status. *J Hepatol* 2020;73:1434-1445.

## **APÉNDICE 1.**

### **HOSPITALES PARTICIPANTES:**

Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid.

Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid.

Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Madrid.

Hospital Universitario Clínico San Carlos, Madrid.

Hospital Universitario La Paz, Madrid.

Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid.

Hospital Universitario La Princesa Madrid.