

Universidad Miguel Hernández

Facultad de Medicina

Departamento de Medicina Clínica



**Incidencia y Características Clínicas del
Hepatocarcinoma en pacientes con
infección por el Virus de la
Inmunodeficiencia Humana**

Tesis doctoral

Esperanza Merino de Lucas
Alicante, 2015



Tesis doctoral

Incidencia y Características Clínicas del
Hepatocarcinoma en pacientes con infección
por el Virus de la Inmunodeficiencia
Humana

Doctoranda

Esperanza Merino de Lucas

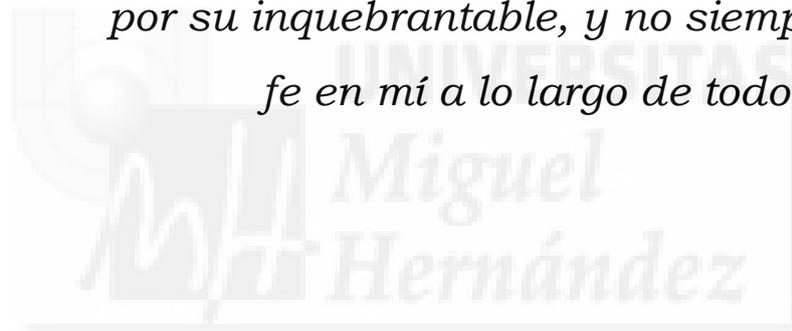
Directores de tesis

Dr. Joaquín Portilla Sogorb

Dr. José Sánchez Payá

Dedicatoria

*A Pepe Sánchez y Ximo Portilla,
por su inquebrantable, y no siempre merecida,
fe en mí a lo largo de todos estos años.*





ÍNDICE



Índice

Abreviaturas.....	5
Introducción	
1. Importancia de las neoplasias en pacientes con infección por VIH.....	9
2. Papel mutagénico del Virus de Hepatitis B y C.....	13
3. El hepatocarcinoma: generalidades.....	16
4. Hepatocarcinoma en pacientes con infección VIH.....	27
5. Erradicación del VHC y desarrollo de hepatocarcinoma.....	31
Justificación.....	35
Hipótesis.....	39
Objetivos.....	43
Pacientes y Método.....	47
Resultados.....	59
Discusión.....	87
Conclusiones.....	111
Bibliografía.....	115



Abreviaturas

AASLD: *American Association for the Study of Liver Diseases*

ALT: Alanino aminotransferasa

AST: Aspartato aminotranferasa

BCLC: *Barcelona Clinic Liver Cancer group*

CDC: *Center for Diseases Control*

CHC: Carcinoma hepatocelular

EASLD: *European Association for the Study of Liver Diseases*

ECOG: *Eastern Cooperative Oncology Group*

GGT: Gamma-glutamil transpeptidasa

MELD: *Model for end-stage liver diseases*

LNH: Linfoma no Hodgkin

LDH: Lactato deshidrogenasa

RVS: Respuesta viral sosteni

TAR: Tratamiento anti-retroviral

TDS: Tumores definitorios de sida

TNDS: Tumores no definitorios de sida

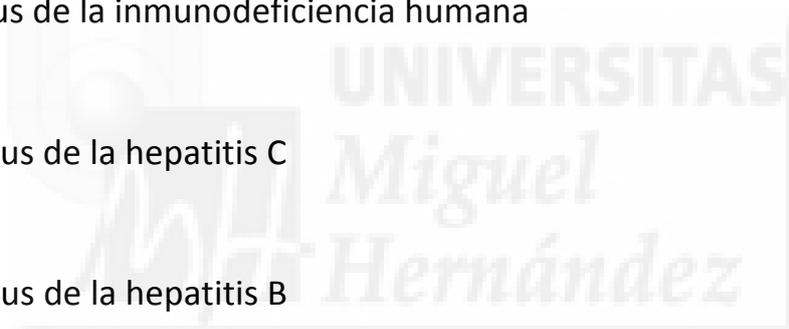
VEB: Vírus de Epstein-Barr

VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana

VHC: Virus de la hepatitis C

VHB: Virus de la hepatitis B

VPH: Virus del papiloma humano





INTRODUCCIÓN



Introducción

1. Importancia de las neoplasias en pacientes con infección por Virus de la Inmunodeficiencia Humana

Desde el inicio de la pandemia de la infección por VIH y coincidiendo con la elevada incidencia de infecciones oportunistas, se describieron una serie de neoplasias relacionadas con la inmunodepresión, que fueron catalogadas como enfermedades definatorias de sida. El sarcoma de Kaposi, el linfoma de Burkitt, el linfoma cerebral primario y el carcinoma de cuello uterino se incluyeron en 1993 como categoría C (definitorio de sida) en las categorías clínicas de infección VIH que estableció el *Center Diseases Control* (CDC)¹.

Tras la introducción del tratamiento antirretroviral de alta eficacia (TAR) en 1996, se objetivó una reducción en la incidencia y mortalidad relacionada con estos tumores (principalmente el sarcoma de Kaposi y el linfoma no-Hodgkin), con aumento progresivo de la incidencia de otros tumores no catalogados previamente como definatorios de sida (Tumores No Definatorios de Sida: TNDS)^{2,3}.

Los principales TNDS descritos en grandes cohortes de pacientes que reciben tratamiento antirretroviral (TAR), se dividen en tres grandes grupos: (1) tumores relacionados con exposición a tóxicos, principalmente el tabaco, como el carcinoma de pulmón, riñón, laringe y vejiga; (2) tumores relacionados con infecciones virales como el

carcinoma anal, nasofaríngeo y cérvix (virus del papiloma humano: VPH), el carcinoma hepatocelular o hepatocarcinoma, relacionado con virus de hepatitis B y C y el linfoma de Hodgkin (virus de Epstein-Barr: VEB); y (3) no relacionado con ninguno de los agentes anteriores: mama, colon, próstata, sistema nervioso central, etc. En global, todos estos tumores presentan un aumento de incidencia respecto a población general, como se refleja en un amplio meta-análisis⁴ con RR 2,01 (1,6-2,5), en el que el mayor aumento de incidencia se observó en para tumores relacionados con infecciones virales, RR: 11,5 (6,5-10,5), y en menor medida, para aquellos relacionados con exposición a tóxicos, RR: 2,8 (1,6-4,9).

Otras series ofrecen datos similares⁵, con aumento del riesgo de 1,6-3 veces respecto a población general para el grupo de tumores más frecuentes observados en estos pacientes (linfoma de Hodgkin, cáncer de pulmón, melanoma, hepatocarcinoma, carcinoma de orofaringe, leucemia, carcinoma colorrectal y carcinoma renal) .

El aumento de incidencia de TNDS de forma paralela a la reducción de la mortalidad relacionada directamente con la inmunodeficiencia en la última década, ha hecho que todos estos tumores se conviertan en una de las principales causas de mortalidad en pacientes con infección por VIH. Así, en la década 1995-2005 la mortalidad por tumores suponía únicamente un 10% de la mortalidad global en estos pacientes⁵ incrementándose al 25-40%, en cohortes⁶ posteriores al 2005.

En la cohorte Suiza⁷ en el período 2005-2009, el cáncer se convirtió en la primera causa de mortalidad en población suiza con infección por VIH. En Estados Unidos^{6,7} se ha estimado una tasa de mortalidad relacionada con TNDS del 1,1-1,8 por 1.000 pacientes por año de seguimiento, para el período 2005-2010.

En España, según datos de la cohorte CoRIS⁸ (Red Investigación en Sida), con un seguimiento de 13.306 personas-año infectadas por VIH entre 2004-2010, se detecta una incidencia de TNDS del 4,26 (3,26-5,56) por 1.000 pacientes-año, con una mortalidad de 1,57 (1,02-2,42) por 1.000 personas-año. Los cuatro tumores más frecuentes en esta cohorte fueron el linfoma de Hodgkin, el cáncer de pulmón, el carcinoma hepatocelular (CHC) y el carcinoma anal.

Se han postulado diferentes razones para explicar este incremento en la incidencia global de TNDS^{9,10,11}. En primer lugar, el aumento de la esperanza de vida y la reducción de mortalidad relacionada con tumores definatorios de sida (TDS) y con las infecciones oportunistas¹². En segundo lugar, las coinfecciones por virus como el VPH, VEB, VHB y VHC, con gran período de latencia y efecto oncogénico a largo plazo, presentan una elevada prevalencia en pacientes con infección por VIH, favoreciendo el desarrollo de ciertos tumores como el carcinoma anal, el linfoma de Hodgkin y el hepatocarcinoma^{12,13}. Así mismo, en pacientes con infección por VIH se ha descrito una elevada prevalencia de conductas relacionadas con tumores, como el hábito tabáquico,

drogas ilegales, alcohol... que aumentan la incidencia de múltiples neoplasias^{14,15}. El propio VIH podría jugar un papel tanto de forma directa como indirecta. Aunque el VIH no es propiamente un virus oncogénico^{16,17} se han encontrado fragmentos de su genoma en algunos pacientes con linfoma no Hodgkin, o con sarcoma de Kaposi^{18,19}.

Aunque se ha considerado que la inmunodeficiencia producida por la infección VIH sería un factor patogénico o factor asociado al desarrollo de algunos TNDS, actualmente es un tema controvertido en la literatura. Mientras algunos estudios demuestran que la inmunodepresión severa, expresado en un bajo nadir de linfocitos CD4⁺ o ausencia de recuperación inmunológica, se asocia al desarrollo de TNDS, otras series destacan la incidencia de estas neoplasias en pacientes sin inmunodepresión severa. Así, en la cohorte de Veteranos de Estados Unidos, el 80% de los tumores se diagnosticaban en pacientes con linfocitos CD4⁺ > 350/ mm³, y con una media de linfocitos CD4⁺ de 430/mm³ en el momento del diagnóstico de la neoplasia²⁰.

La ausencia de tratamiento antiretroviral también se ha considerado un factor de riesgo para el desarrollo de TNDS. El efecto protector del TAR podría no estar relacionado directamente con la recuperación inmunológica, como se ha demostrado para los tumores asociados a sida. Existirían otros mecanismos implicados como la reducción de la activación inmunológica, de los niveles de determinadas citocinas o del control inmunológico de la proliferación neoplásica, que podrían reducir la probabilidad del desarrollo de tumores.

2. Papel mutagénico de VHB y VHC.

Aunque se han descrito diferentes vías por las que el VHC y VHB están implicados en la hepatocarcinogénesis, el CHC es un tumor muy heterogéneo y de complejidad elevada, que se ha asociado con múltiples alteraciones aberrantes en diferentes vías metabólicas²¹ no bien definidas.

Virus de la Hepatitis B

La asociación entre infección crónica por VHB y CHC ha sido demostrada en muchos estudios, en los que se evidencia como el CHC puede desarrollarse en pacientes con infección crónica VHB pero sin cirrosis. Sin embargo, el 70-90% de los pacientes con CHC asociado a VHB tienen cirrosis al diagnóstico del CHC, comportándose como el principal factor de riesgo para el desarrollo de CHC. Otros factores de riesgo asociados son la carga viral de VHB, la presencia del HBeAg y del HBsAg.

La integración del VHB en el genoma del huésped no es esencial para la replicación viral pero se han detectado secuencias virales tanto en células tumorales como en el tejido hepático adyacente al tumor. Las secuencias del VHB que se detectan en el tejido neoplásico se producen en zonas mayores de integración celular. Esta integración del ADN del VHB produce tres consecuencias en el genoma del huésped: (1) alteraciones a nivel de la transcripción de los genes adyacentes, (2) inestabilidad genómica y (3) transcripción quimérica fusionada viral-humana que funcionan como un largo ARN que promueve el desarrollo de CHC²¹.

Estos datos sugieren, que el CHC es el resultado de una expansión clonal de las células hepáticas^{22,23}.

El VHB también codifica una proteína (HBx) que podría tener un papel pivotal en la hepatocarcinógenesis²⁴ del VHB mediante la alteración de diferentes funciones celulares, como aumento de apoptosis, alteración de los mecanismos reguladores de ADN del VHB, diferentes fenómenos epigenéticos o mayor inestabilidad genética.

Virus de la hepatitis C

Aunque se ha descrito que el CHC asociado a VHC aparece casi exclusivamente en pacientes con estadios avanzados de fibrosis o cirrosis, a diferencia del VHB, se ha descrito en diferentes series, que alrededor del 10% de pacientes sometidos a resección quirúrgica por CHC, presentan estadios precoces de fibrosis.

El VHC es un virus RNA que se replica en el citoplasma y no se integra en el genoma del huésped, por lo que su potencial papel oncogénico directo parece menor que el del VHB. Los mecanismos implicados en la hepatocarcinogénesis por VHC se producen por efectos indirectos derivados de la inflamación crónica que induce una respuesta inmunitaria contra los hepatocitos infectados, asociado con apoptosis y aumento de proliferación celular que permite el desarrollo de fibrosis hepática, posterior cirrosis y CHC²⁵.

También se ha postulado un efecto oncogénico directo de proteínas estructurales y no estructurales que se ha relacionado con el desarrollo de CHC²⁵, aunque no se ha identificado una proteína viral aislada que demuestre de forma consistente su implicación en el desarrollo de CHC. Estudios en ratones transgénicos han demostrado que la proteínas del *core* del VHC (genotipo 1b) inducían cambios morfológicos y bioquímicos que promovían el desarrollo de CHC²⁵. Los mecanismos implicados se producen a través de una sobre-expresión de genes, activación de diferentes vías metabólicas implicadas en la proliferación celular y en la inactivación de mecanismos de reparación celular. En experimentos animales, la proteasa NS3 del VHC parece tener un papel directo en la inducción de la transformación del hepatocito en células neoplásicas²⁶, con implicación en menor medida de otras proteínas virales como la NS5A, NS4B o la NS5B.

Estos mecanismos de hepatocarcinogénesis tanto directos como indirectos se reflejan en la presentación clínica de pacientes con CHC. Así, aunque el CHC se desarrolla fundamentalmente en pacientes con cirrosis previa, se ha descrito una incidencia variable del 6 al 17% de pacientes con CHC sin cirrosis asociada^{27,28,29}. En estos casos, las proteínas virales comentadas (*core*, NS3, NS4B y NS5A) tiene un papel fundamental en la patogénesis. También parece que la necro-inflamación producida por la infección por VHC contribuye al riesgo de CHC independientemente del desarrollo de cirrosis hepática. Así algunos estudios demuestran que los niveles elevados de ALT y AST, como marcadores de inflamación hepática, se correlacionan con el

riesgo de desarrollo de CHC de forma independiente al grado de fibrosis³⁰.

2. Hepatocarcinoma: generalidades

El carcinoma hepatocelular o hepatocarcinoma es el sexto tumor maligno más frecuente en población general (supone el 5% de todos los tumores) y la tercera causa de mortalidad asociada a cáncer a nivel mundial³¹.

Se estima que se diagnostican más de medio millón de nuevos casos anualmente con un número similar de muertes, dada la alta mortalidad asociada. El 70-90% de los casos de CHC se desarrollan sobre enfermedad hepática crónica. A nivel mundial el 80% aproximadamente están causados por el virus de la hepatitis B o C, especialmente en pacientes con cirrosis o fibrosis avanzada, con aumento del riesgo 10-100 veces para pacientes infectados por VHB y de 17-20 veces en pacientes con infección por VHC, comparados con la población no infectada^{32,33}.

En función del área geográfica³⁴ predomina una etiología u otra coincidiendo con la epidemiología de la infección por VHB y VHC. En Estados Unidos, Europa, Japón y Egipto más del 60% del CHC se asocia a el VHC y cerca del 20% al VHB, mientras que en Asia y Africa, el 60% está asociado a VHB y sólo 20% está relacionado con el VHC.

La incidencia ajustada por edad de presentación del CHC está aumentado en muchos países, incluyendo Estados Unidos y Europa occidental lo que se ha atribuido principalmente a la elevada incidencia de infección por VHC en la población adulta de los países desarrollados.

Otras etiologías relacionadas que suponen el 20% de los casos incluyen el consumo de alcohol y en menor medida, las enfermedades metabólicas como la esteatohepatitis no alcohólica, déficit de alfa-1-antitripsina, hemocromatosis, tirosinemia congénita o bien asociadas a carcinógenos como la aflatoxina B1, *thorotrast* o algunos fármacos (estrógenos, metildopa y metotrexate)³⁵.

Diagnóstico

El diagnóstico del CHC se basa en los criterios diagnósticos desarrollados por la *European Association for the Study of Liver Diseases* (EASLD) y la *American Association Study of Liver Diseases* (AASLD), el algoritmo diagnóstico se basa en la identificación de un nódulo hepático mediante ecografía. La sensibilidad y especificidad de la ecografía es muy variable, con menor capacidad que la tomografía computerizada (TAC) o la resonancia magnética (RM) para la detección de nódulos³⁶, fundamentalmente de diámetro menor de 1 cm. Dado que estudios anatómo-patológicos han revelado que la mayor parte de los nódulos menores de 1 cm de diámetro detectados en hígados cirróticos no son CHC, se continúa recomendando la ecografía como primera técnica de evaluación diagnóstica³⁷. Cuando se detectan

nódulos inferiores a un centímetro en una ecografía hepática se recomienda seguimiento cada 3-4 meses. Para lesiones mayores de 1 cm se recomienda la realización de forma inicial de estrategias diagnósticas no invasivas, y cuando no son concluyentes, está indicada la realización de biopsia hepática.

Las técnicas no invasivas se basan en la TAC y la RM. La utilización de la TAC para el diagnóstico requiere la administración de contraste iodado y una técnica trifásica en la que se objetiva un aumento de captación en fase arterial y un lavado tardío muy característico del CHC. Varios estudios han demostrado mayor sensibilidad con la RM con gadolinio comparado con la TAC en la detección de CHC de cualquier tamaño, otros estudios han sugerido una menor sensibilidad de la TAC únicamente para la detección de nódulos displásicos, CHC pequeños o difusos comparados con la RM³⁸. La RM dinámica optimizada con gradiente de eco en T1 (GRE)³⁸ con individualización del tiempo en fase arterial ha permitido aumentar su sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de CHC.

Actualmente, los criterios validados para el diagnóstico por la AASLD (actualizados en 2010) se basan en la detección de nódulos en paciente con cirrosis, en los que la secuencia diagnóstica se basa en el tamaño de la lesión:

- Nódulos menores de 1 cm en ecografía: recomendación de seguimiento cada 3-6 meses. Si no aumentan de tamaño durante dos años, no precisa seguimiento adicional.
- Nódulos mayores de 1 cm, se realizará evaluación mediante RMN o TAC dinámico. Si presenta los datos característicos de CHC, no precisa medidas diagnósticas adicionales. Si la imagen no es típica, o bien se realiza una medida de imagen adicional (RMN o TAC) o bien una biopsia hepática.

Las guías EASL (2012) difieren en algunos aspectos respecto a las AASLD:

- Nódulos < 1 cm, se recomienda seguimiento cada 4 meses durante un primer año, posteriormente cada 6 meses.
- Nódulos entre 1-2 cm: se recomienda TAC dinámico o RMN con contraste. Si presenta datos característicos de CHC no precisa medidas diagnósticas adicionales. Si no es así, debe realizarse una primera o segunda biopsia, si la primera no fuese diagnóstica.
- Nódulos >2 cm: realización de TAC dinámico o RMN, en caso ausencia de la imagen característica de CHC debe realizarse biopsia, y si no es concluyente ecografía cada 4 meses.

La alfa-fetoproteína (AFP) no es un marcador útil debido a su baja sensibilidad (25-30%), aunque presenta una especificidad cercana al 100% para valores muy elevados (>200-400ng/mL). Su valor actual

radica en su probable utilidad como factor pronóstico, ya que las elevaciones de la AFP se correlacionan con el tamaño del tumor, estadio clínico, trombosis portal, metástasis y reducción de supervivencia³⁹.

Otros biomarcadores como la AFP-L3 (isoforma de AFP) o DCP (*des-gamma carboxy prothrombin*) combinadas con la AFP podrían mejorar la rentabilidad en el diagnóstico del CHC, recomendadas por las guías de la FDA, aunque su papel actual precisa ser definido por la AASLD⁴⁰.

Estadía del Hepatocarcinoma

Se han propuesto múltiples clasificaciones que permiten estadiar el CHC, estratificando a los pacientes en función de su pronóstico, y que son la base para la indicación de los diferentes abordajes terapéuticos. En contraste con otros tumores, el pronóstico y el tratamiento dependen no sólo de la propia carga tumoral, si no de la enfermedad hepática de base y su reserva funcional. Por tanto, cualquier clasificación para su estadía deben incluir tamaño del tumor y su extensión (clasificación TNM), escalas de función hepática como el Child-Pugh o el MELD y el *performance status* del paciente, de acuerdo con la estratificación del *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG).

La clasificación más útil es la que desarrolló Grupo Cancer Hepático del Hospital Clínico de Barcelona (BCLC: *Barcelona Clinic Liver Cancer*

group), que ha sido validado en diferentes escenarios y ha establecido recomendaciones de tratamiento para cada uno de los estadios de la enfermedad⁴¹, estableciendo 5 estadios:

1. Estadio muy precoz (BCLC O)

Incluye pacientes que cumplen todos los siguientes criterios:

- Lesión única < 2 cm (carcinoma *in situ*)
- Cirrosis compensada (estadio Child-Pugh A), sin signos de hipertensión portal.
- El performance status de acuerdo con la ECOG debe ser O.

La supervivencia esperada es superior al 90% a los 5 años tras resección quirúrgica.

2. Estadio precoz (BCLC A)

En este estadio se clasifican los tumores que cumplen todos estos criterios:

- Lesión única > 2 cm o múltiples, de 1 a 3 lesiones nodulares, todas ellas menores de 3 cm.
- Child-Pugh A o B con ausencia de hipertensión portal significativa.
- Bilirrubina dentro de los límites de la normalidad.
- Ausencia de invasión vascular y de lesiones extrahepáticas.

La supervivencia a los cinco años con trasplante es del 50%.

3. Estadio intermedio (BCLC B)

Incluye pacientes que cumplen todos los criterios siguientes:

- Una o más lesiones nodulares grandes o enfermedad multifocal en pacientes asintomáticos con enfermedad multifocal.
- Ausencia de invasión vascular y de lesiones extrahepáticas.
- Cirrosis Child-Pugh A o B.

La supervivencia estimada es de 16 meses. Un meta-análisis reciente de estudios aleatorizados, sugiere que la presencia de ascitis es el principal factor pronóstico de mala evolución⁴².

4. Estadio avanzado (BCLC C)

Incluye los pacientes que no cumplen los criterios del estadio B.

Pacientes sintomáticos, con *performance status* 1-2 (ECOG), con invasión vascular o extensión extra-hepática.

Su supervivencia ha aumentado recientemente (10.7 meses) tras la introducción del sorafenib⁴³.

5. Estadio terminal (BCLC D)

Pacientes con disfunción hepática severa (Child-Pugh C) y que son candidatos a trasplante hepático, con *performance status* ECOG > 2. La supervivencia esperada es menor de seis meses.

Aunque la clasificación del BCLC es la más ampliamente utilizada, existen hasta 20 clasificaciones diferentes⁴⁴ del estadiaje del CHC, entre ellas el *Okuda*, *score del Cancer Liver Italian Programme*, *sistema GRETCH (French Groupe d'Etude)*, el Índice Pronóstico de la

Universidad de *China*, *BALAD Score*, *TNM*, *Simplified Staging system*, etc. Todas estas clasificaciones presentan limitaciones importantes:

- 1) Ninguno de estos sistemas incorpora la localización del tumor o su proximidad a vasos mayores, lo cual afecta a la selección del tratamiento quirúrgico.
- 2) No incorporan la etiología del CHC, a pesar de que en múltiples estudios se ha determinado que el CHC asociado a VHC o alcohol tiene peor pronóstico que el asociado a VHB.
- 3) Excepto el BCLC, la mayor parte de ellas no establecen recomendaciones de tratamiento en función del estadio. Incluso existe controversia sobre las recomendaciones establecidas del tratamiento según el estadio BCLC, por lo que se ha planteado la necesidad de una evaluación cuidadosa y multidisciplinaria para establecer el tratamiento óptimo en función de las recomendaciones del BCLC.

La creciente evidencia del conocimiento de la biología del tumor y los avances en técnicas de imagen y modalidades de tratamientos conllevarán mejores sistemas de estadiaje, que permitan una mejor estratificación y predicción de supervivencia con el objetivo de optimizar el tratamiento de los pacientes con CHC⁴⁴.

Tratamiento

La Primera Conferencia de Consenso de CHC de 2010 de la American Hepato-Pancreato-Biliary Association (AHPBA) y de la American Joint

Comission of Cancer (AJCC) concluyó que ninguna de las clasificaciones utilizadas para el estadiaje del CHC podían utilizarse de forma aislada para establecer el abordaje terapéutico. Posteriormente, la segunda Conferencia de Consenso de CHC de 2012 recomendó que la clasificación del BCLC debería utilizarse para la decisión terapéutica en pacientes con enfermedad avanzada (estadío C,D) y el sistema TNM para pacientes susceptibles de tratamiento quirúrgico.

Si el CHC se diagnostica en estadios iniciales puede curarse mediante resección quirúrgica hepática, trasplante hepático o tratamiento percutáneo (ablación por radiofrecuencia o inyección percutánea de etanol) por ello estos tratamientos se catalogan como potencialmente curativos. El resto de tratamientos, como la quimioembolización transarterial, la radioterapia o tratamiento sistémico (sorafenib) se consideran no potencialmente curativos o paliativos^{45,46}.

La resección quirúrgica depende del tamaño del tumor, localización y función hepática, con supervivencias a los 5 años que oscilan entre el 20-70%. El trasplante hepático se indica en pacientes que cumplan los criterios de Milán (lesión única < 5 cm o lesiones < 3 cm cada una), con supervivencia^{47,48} por encima del 70% a los cinco años, aunque con tasas de recurrencia del 15%.

El tratamiento percutáneo es la mejor opción médica para tumores iniciales, no tributarios de cirugía o trasplante, y preferiblemente con

estadio A de Child-Pugh. Estos tratamientos incluyen la inyección percutánea de etanol y la ablación mediante radiofrecuencia, esta última mejora la supervivencia y reduce la recurrencia comparado con la inyección percutánea de etanol⁴⁹, con respuesta completa que puede alcanzar el 80% en tumores < 3 cm.

Entre los tratamientos paliativos se incluye la quimioembolización transarterial como principal modalidad de tratamiento para tumores no resecables, consiguiendo la necrosis tumoral en el 30-50% de los pacientes aunque sin conseguir respuesta completa⁵⁰. Está indicada en pacientes asintomáticos con cirrosis Child-Pugh A y CHC multinodular, sin invasión vascular ni enfermedad extrahepática. La utilización de tratamientos combinados puede mejorar el pronóstico en poblaciones seleccionadas, como la combinación de ablación por radiofrecuencia con quimioembolización transarterial, que parece mejorar que la utilización de radiofrecuencia aislada, aunque no está claro el beneficio de la combinación sobre la quimioembolización aislada. La experiencia con radioterapia esteroatáxica así como la radioembolización es limitada pero pueden ser una opción como tratamiento complementario o para tumores no subsidiarios de otras modalidades de tratamiento.

La administración de quimioterapia sistémica no ha demostrado mejoría de la supervivencia, excepto con la administración de sorafenib, que actúa inhibiendo múltiples kinasas involucradas en la patogénesis

del CHC⁵¹. Sorafenib es el único fármaco sistémico que ha demostrado un aumento, aunque modesto, de la supervivencia global y está indicado actualmente en pacientes con estadios avanzados. Ensayos clínicos recientes en fase II y III con everolimus, sunitinib o trebananib no han demostrado mejoría del pronóstico. En la actualidad existen gran cantidad de moléculas en desarrollo para el tratamiento del hepatocarcinoma⁵².

Pronóstico

A pesar de los avances en el tratamiento, la mortalidad del CHC es muy elevada. En pacientes sin tratamiento, la supervivencia a un año⁴² es del 17% y del 7% a 2 años, con probabilidades de supervivencia muy variables en función del tratamiento administrado. Los principales factores pronósticos de supervivencia se basan en el tipo de tratamiento administrado, las características del tumor, gravedad de la enfermedad hepática de base y el estado clínico del paciente.

No hay consenso en cuanto a que clasificación predice mejor la supervivencia de los pacientes con CHC. En general, el sistema TNM predice mejor el pronóstico para pacientes susceptibles de tratamiento quirúrgico, mientras que el BCLC, Okuda o Clip son más útiles en la predicción del pronóstico para pacientes con enfermedad avanzada (peor función hepática o no susceptibles de tratamiento quirúrgico).

En función de la clasificación BCLC, la supervivencia estimada⁵¹ a los 5 años es del 50-70% para pacientes en estadio A con tratamiento curativo, 16-20 meses en estadios B, 6-10 meses en estadio C y 3-4 meses para estadios terminales (D). La infección por VHB o VHC influye en la mortalidad en pacientes con ausencia de cirrosis y supone un aumento del riesgo de recidiva tras la resección quirúrgica del tumor⁵³.

Diagnóstico precoz: Programas de cribado.

Uno de los factores fundamentales para mejorar el pronóstico global de los pacientes con CHC, es el diagnóstico en estadios precoces. En general, aproximadamente el 70% son diagnosticados en estadios sin opciones de tratamiento potencialmente curativo. Este retraso diagnóstico está relacionado con la ausencia de realización de estudios de imagen rutinarios en los pacientes de alto riesgo, es decir pacientes con fibrosis hepática avanzada, y fundamentalmente cirróticos, en los que el riesgo de desarrollo de CHC es de 1,5-2% anual. Los pacientes con hepatitis B crónica constituyen el único grupo de pacientes con elevado riesgo de desarrollo de CHC independientemente del diagnóstico de cirrosis hepática.

La AADSL y la EASLD recomiendan la ecografía como la técnica de elección para el cribado o *screening* del CHC⁴⁵ (sensibilidad del 65% y especificidad del 80%) por su rentabilidad, bajo coste y ausencia de radiación, aunque presenta limitaciones en la detección de nódulos de bajo tamaño o en pacientes obesos. Se ha planteado la realización de

TAC dinámico como técnica de cribado por su mayor sensibilidad, pero la radiación que podría aumentar la carcinogénesis y su coste, han limitado su utilización⁴⁰.

El estudio más amplio aleatorizado y controlado realizado en 2004 en una población de 18.816 personas con infección o historia de hepatitis crónica por VHB, se comparó la realización de *screening* de CHC (ecografía semestral) *versus* no *screening*, demostrando una reducción de la mortalidad relacionada con el CHC utilizando este esquema de cribado⁵⁴.

Posteriormente, un estudio retrospectivo comparó la realización de ecografía anual *versus* semestral, demostrando que el seguimiento semestral es superior para la detección precoz de CHC⁵⁵. En la literatura no se recomienda reducir el intervalo de tiempo en la exploración ecográfica para pacientes de muy alto riesgo, ya que el intervalo recomendado está basado en el tiempo medio de duplicación del tumor y no en el mayor riesgo de su desarrollo⁵⁶.

La utilización de la AFP como *screening* es inadecuada por la falta de sensibilidad y especificidad para los diferentes puntos de corte, por lo que sólo debería ser utilizada si no hay disponibilidad de realización de ecografías (AASLD, 2010).

Prevención

La prevención del desarrollo de CHC está en relación con las etiologías que se asocian con mayor frecuencia.

En Europa occidental y USA, el CHC está en relación fundamentalmente con la infección por VHC (80%), por lo que la principal estrategia de prevención debería basarse en medidas dirigidas a reducir la transmisión del VHC (reducción de la exposición, dada la ausencia de vacunación). En segundo lugar, para pacientes infectados por VHC la estrategia se basaría en reducir la progresión de la fibrosis hepática mediante el tratamiento antiviral y erradicación del VHC, que debería ser el objetivo terapéutico en todos los pacientes infectados por VHC. Se ha demostrado que la respuesta viral sostenida (RVS) en pacientes con VHC, reduce el riesgo de desarrollo de CHC⁵⁷. La tasa de respuesta viral sostenida con el tratamiento con interferón pegilado y ribavirina no supera el 60-70%. Tras la introducción de los nuevos antivirales de acción directa, se consiguen tasas de RVS cercanas al 90-95%, por lo que es de esperar un cambio en la historia natural de la enfermedad hepática por VHC, con un descenso de la incidencia de CHC en estos pacientes.

En la prevención del CHC asociado a VHB, son básicas las estrategias dirigidas a la reducción de la incidencia de la infección, mediante la vacunación universal que previene la infección por VHB y por tanto podrían ser la estrategia más efectiva en la reducción de la incidencia

de CHC. En pacientes con infección por VHB, en los que el riesgo de CHC se incrementa de forma paralela a la replicación del VHB en suero, con estudios que han demostrado como la supresión de replicación viral mediante el tratamiento antiviral reduce el riesgo de desarrollo CHC^{58,59},

Así mismo, también es importante detectar y reducir las comorbilidades asociadas, como el consumo de alcohol, diabetes, esteatosis y alteraciones metabólicas que también contribuyen al desarrollo de CHC en pacientes infectados por VHC.

3. Hepatocarcinoma en pacientes con infección por VIH

En los países occidentales, el CHC en pacientes con infección por VIH, está relacionado con la infección por VHC en más del 80% de los casos⁶⁰. Otros factores que también pueden contribuir a su desarrollo son la infección por VHB, el consumo de alcohol o la presencia de esteatohepatitis no alcohólica, que algunos estudios estiman que podría afectar al 30-40% de pacientes con infección por VIH⁶¹.

La infección y enfermedad hepática por VHC presenta peor pronóstico y menor supervivencia en pacientes coinfectados por VIH-VHC respecto a pacientes mono infectados por VHC^{62,63,64,65}. En los últimos años se ha observado un aumento progresivo de la mortalidad de causa hepática en los pacientes coinfectados por VHC-VIH⁶⁶ aunque existe

controversia respecto a si la incidencia de CHC está aumentada en esta población. En un estudio retrospectivo⁶⁷, de una cohorte de más de 30.000 pacientes con infección por VHC, de los cuales 4761 estaban coinfectados por VIH, la incidencia de CHC fue similar en ambos grupos (coinfectados vs mono infectados. 1.3 y 2/1.000 personas-año respectivamente) sin asociación en el estudio multivariante, de la infección por VIH con el CHC (HR 0.84, p=0.4). En otro estudio que incluyó 1217 pacientes con enfermedad hepática terminal por VHC, 180 de ellos coinfectados VIH-VHC, la incidencia de CHC fue significativamente inferior en el grupo de pacientes coinfectados⁶⁸, como también se confirmó en otras cohortes posteriores⁶⁹.

Una de las principales razones que explica la menor incidencia en muchas series, es que la infección por VIH acorta la supervivencia de los pacientes con enfermedad hepática avanzada por VHC, por lo que se reduce la aparición de una complicación tardía como es el CHC^{70,71,72,73}. Por ello, debido al mejor control de la infección por VIH, así como de las complicaciones relacionadas con la hepatopatía avanzada, es esperable un aumento de la incidencia de CHC en estos pacientes, como parecen sugerir datos indirectos en relación con la mortalidad asociada.

En 2009, en el estudio *Mortalité* realizado en Francia⁷⁴, que analiza las causas de muerte en una amplia cohorte de pacientes con infección por VIH, detectó un aumento de mortalidad atribuible a CHC de 10 veces, desde el año 2000 al 2005. De la misma forma en las cohortes de Estados Unidos, se detecta un aumento de la mortalidad relacionada

con el CHC en relación al resto de causas de muerte para pacientes con infección por VIH⁷⁵.

Estos datos de aumento progresivo de mortalidad, orientan a un incremento de la incidencia de CHC, aunque los datos publicados en la literatura son muy escasos. Tres estudios han analizado la incidencia global en tres cohortes^{76,67,62} de pacientes con infección por VIH previas al 2005 con una incidencia estimada entre 0-1,3 por 1.000 personas-año y una escasa detección de casos (seis en la serie de Murillas⁷⁶, diez en la de Kramer⁶⁷ y cuatro en la de García-García⁶²), lo que no permite analizar la evolución de la incidencia en una serie temporal. En una cohorte posterior⁷⁷, publicada en 2011 y más amplia, con diez años de seguimiento (1998-2008) se detecta una incidencia de 0,78 por 1.000 pacientes-año, aunque no se analiza la evolución de la incidencia a lo largo de la década.

El curso clínico y las características del CHC en pacientes con infección por VIH no están claramente definidas en la actualidad. La mayor parte de los estudios incluyen series de número reducido, en la que gran proporción de pacientes no recibían tratamiento antirretroviral óptimo. Dos estudios retrospectivos con diseño casos-contróles con inclusión de 41 y 63 casos de CHC en pacientes con infección por VIH comparados con 384 y 226 controles con CHC sin infección por VIH respectivamente, sugieren que en el momento del diagnóstico, el CHC afectaba a población más joven, con mayor frecuencia de tumores

infiltrantes, y metástasis a distancia en pacientes con infección VIH respecto a pacientes no infectados por VIH^{78,79}. Estos resultados fueron confirmados por un estudio prospectivo, pero de bajo tamaño muestral, que comparó 15 casos de CHC coinfectados por VIH-VHC frente a 15 pacientes infectados únicamente por VHC⁸⁰.

Aunque algunos datos sugieren peor pronóstico en pacientes con infección por VIH, no existen datos concluyentes, puesto que existen muchos factores que pueden estar influyendo en la supervivencia. En primer lugar, es fundamental el estadio del CHC al diagnóstico, ya que en muchas series la proporción de pacientes con infección por VIH diagnosticados en estadios avanzados es mayor que para pacientes no-VIH, lo que supone el principal factor pronóstico. En segundo lugar, el tipo de tratamiento administrado. En las series previas al 2005-2008, se detecta un menor acceso al tratamiento para los pacientes con infección por VIH, independientemente del estadio del tumor, respecto a los pacientes sin infección por VIH⁷⁹. Aunque las razones fundamentales no han sido aclaradas, puede estar en relación con peor control de la infección VIH, complicaciones sobreañadidas en relación con la propia infección o mayor dificultad de acceso al tratamiento. Estudios más recientes, en cambio, señalan un acceso similar al tratamiento en función del estadio del CHC⁷⁸. En tercer lugar, el adecuado control de la infección por VIH es fundamental en el pronóstico, y muchos de los estudios publicados incluyen pacientes con tratamientos subóptimos para el VIH.

Tres estudios posteriores^{81,78,82} con diseño similar, incluyeron pacientes con coinfección por VIH -VHC y con CHC comparados con un grupo control, constituido por pacientes mono infectados por VHC y CHC. En ninguno de los tres estudios se identificó la infección por VIH como un factor pronóstico de supervivencia. En cambio, se identificaron los siguientes factores asociados a la supervivencia: tamaño del tumor, niveles de AFP al diagnóstico del CHC, estadio BCLC, diagnóstico durante la realización de programas de cribado, el estadio Child-Pugh de cirrosis hepática y tipo de tratamiento administrado.

4. Erradicación del Virus de la Hepatitis C y desarrollo de hepatocarcinoma.

La erradicación de la infección por VHC ha demostrado reducción del riesgo de desarrollo de CHC en pacientes mono infectados con hepatitis crónica por VHC, en diferentes estudios de cohortes de pacientes que han alcanzado respuesta viral sostenida (RVS) para VHC tras administración de tratamientos basados en interferón- pegilado y ribavirina^{83,84,85,86,87}.

Un meta-análisis⁸⁸ de 14 estudios comparando 906 pacientes con RVS frente a 2402 pacientes sin RVS demostró que obtener una RVS reducía el riesgo de CHC en un 65%, RR: 0.35 (0,26-0,46). Sin embargo, los estudios realizados en pacientes con cirrosis hepática^{85,86,87,88,89} han confirmado que aunque la incidencia decrece de forma significativa, el

riesgo de desarrollo de CHC no se elimina por completo en estos pacientes.

El desarrollo de CHC en pacientes con RVS al VHC puede estar en relación a dos factores: (1) la presencia de potencial hepatocarcinogénesis residual, independiente de la viremia por VHC, en la que el ciclo celular acelerado de los hepatocitos puede permitir el desarrollo de poblaciones monoclonales; y (2) presencia de lesiones no detectadas durante la administración de tratamiento por su mínimo tamaño y que son diagnosticadas posteriormente durante el seguimiento⁹⁰.

En los pacientes coinfectados por VIH-VHC existen escasos datos del impacto de la RVS en el desarrollo de CHC. En dos estudios previos^{91,92} que analizaron el impacto de la RVS en la incidencia de descompensación hepática o mortalidad de causa hepática en pacientes coinfectados, no se detectó ningún paciente con CHC en ambas cohortes con 254 y 51 pacientes con RVS respectivamente.

Probablemente, al igual que en pacientes mono infectados por VHC el riesgo de desarrollo de CHC permanece tras RVS, fundamentalmente en el paciente cirrótico, pero la información en el seno de la coinfección es anecdótica. Es posible que la incidencia de desarrollo de CHC en estos pacientes sea diferente del paciente mono infectado, o que presenten características clínicas diferenciales respecto a los pacientes sin RVS



JUSTIFICACIÓN



Justificación

Como se ha comentado previamente, en la actualidad los tumores no defintorios de sida son una causa importante de mortalidad en pacientes con infección por VIH, y en concreto, el hepatocarcinoma (CHC) emerge desde el año 2005 como una de las principales neoplasias de este grupo. Aunque en la última década se han publicado diferentes series que analizan el impacto del CHC en la mortalidad de pacientes infectados por VIH, los datos de la incidencia en estos pacientes son escasos. Sólo tres series^{76,67,62}, que incluyen veinte casos de CHC, ofrecen estimación de la incidencia en pacientes con infección por VIH, aunque de forma global, sin análisis en función de series temporales.

En relación con estos datos, con la elevada prevalencia de infección por VHC en las cohortes de pacientes infectados por VIH en España (40-55%) así como derivado de la experiencia clínica con la percepción de un aumento de incidencia de CHC, se planteó este estudio, para determinar la incidencia del CHC y su evolución en un estudio multicéntrico que permitiera analizar un mayor número de casos.

La descripción clínica de las características del CHC, su evolución y respuesta a tratamiento en pacientes con infección por VIH es limitada. En las series previas publicadas, el tamaño muestral es muy bajo, y además, en muchas de ellas el porcentaje de pacientes sin tratamiento antirretroviral (TAR) o tratamiento subóptimo es elevado. Nos parece importante el diseño de un estudio, que permita analizar los aspectos

clínicos relacionados con el CHC diagnosticados en los últimos 10 años y analizar las posibles diferencias en diferentes series temporales, caracterizar el CHC en los pacientes con infección por VIH en relación con un adecuado control de su infección por VIH, y por último analizar la eficacia de los tratamientos para CHC en términos de supervivencia en estos pacientes.

Otro aspecto importante a conocer, es el impacto de la erradicación de la infección por VHC en pacientes coinfectados por VIH en términos de reducción de la incidencia de CHC. Se ha demostrado que la respuesta viral sostenida tras tratamiento por VHC en pacientes coinfectados por VIH, reduce la mortalidad de causa hepática, descompensaciones hepáticas y mortalidad de cualquier causa, con escasos datos en relación al CHC. En pacientes mono infectados por VHC, la respuesta viral sostenida reduce el riesgo de desarrollo de CHC, aunque no lo elimina por completo, con diferentes series publicadas de CHC en pacientes con RVS, y aunque podemos inferir que este riesgo también permanece en pacientes con infección por VIH, no se han publicado datos sobre este aspecto.

Planteamos identificar la frecuencia global de pacientes con RVS al tratamiento de la infección por VHC en la cohorte multicéntrica de pacientes con coinfectados por VIH-VHC y CHC, así como analizar las características clínicas del CHC en estos pacientes, comparándolas con los pacientes coinfectados sin RVS.





HIPÓTESIS



Hipótesis

1. La incidencia del hepatocarcinoma en pacientes con infección por VIH ha aumentado en los últimos 10 años.
2. En los pacientes con infección por VIH el diagnóstico del hepatocarcinoma se realiza en estadios avanzados, lo que limita el número de pacientes susceptibles de administración de tratamiento potencialmente curativo y por tanto, empeora el pronóstico en términos de supervivencia.
3. Los pacientes con coinfección por VIH y VHC que alcanzan respuesta viral sostenida frente al VHC, continúan en riesgo de desarrollo de hepatocarcinoma.





OBJETIVOS



Objetivos

Objetivo 1:

Describir la incidencia y características clínicas de pacientes con infección por VIH diagnosticados de hepatocarcinoma en una cohorte española.

N. Merchante, E. Merino, J López-Aldeguer, F. Jover, M. Delgado-Fernández, M.J. Galindo, E. Ortega, A. Rivero, C. Mínguez, A. Romero-Palacios, S. Padilla, M. Márquez-Solero, C. Amador, M.J. Ríos-Villegas, F. Téllez, J. Portilla, J. Pineda.

Increasing Incidence of Hepatocellular Carcinoma in HIV-Infected Patients in Spain.

Clin Infectious Diseases 2013;56(1):143-50

Objetivo 2:

Describir la frecuencia y características pacientes con hepatocarcinoma coinfectados por VIH y VHC, con respuesta viral sostenida a VHC y comparar sus características clínicas con aquellos sin respuesta viral sostenida.

N. Merchante, E. Merino, F. Rodríguez-Arrondo, C. Tural, J. Muñoz, M. Delgado-Fernández, F. Jover, M.J. Galindo, A. Rivero, J López-Aldeguer, K. Aguirrebengoa, A. Romero-Palacios, E. Martínez, J. Pineda.

HIV/Hepatitis C virus-coinfectd patients who achieved sustained virological response are still at risk of developing hepatocellular carcinoma.

AIDS 2014;28(1):41-47





PACIENTES Y MÉTODO



Pacientes y Método

Diseño del estudio

Estudio de cohortes retrospectivas y multicéntrico, con la inclusión progresiva de diferentes centros hospitalarios:

1. Artículo 1 (objetivo 1 y 2): inclusión de 18 hospitales de Andalucía y de la Comunidad Valenciana. Período inclusión: 1999-2010.
2. Artículo 2 (objetivo 3): inclusión de 26 hospitales de Andalucía, Comunidad Valenciana, País Vasco y Cataluña. Período inclusión: 1999-2012.

Pacientes del estudio

Se incluyeron todos los pacientes diagnosticados de infección por VIH y hepatocarcinoma obtenidos mediante la consulta de las bases de datos de las Unidades, Servicios o Secciones de Enfermedades Infecciosas o de Medicina Interna de los diferentes centros, y de los registros de Documentación Clínica codificados mediante el sistema CIE-9-MC.

Los pacientes fueron incluidos si cumplían los criterios diagnósticos de hepatocarcinoma 2005-2010 de la *American Association for the Study of Liver Diseases* (AASLD) y todos los centros adoptaron las recomendaciones de diagnóstico y tratamiento según estas guías de práctica clínica del CHC de la AASLD después de su publicación en 2005 y de su actualización posterior, en función del año del diagnóstico^{45,93}.

Variables

Las variables que se incluyeron en el estudio fueron las siguientes:

1. Variables demográficas

- Número historia clínica.
- Número identificación anonimizado.
- Fecha de nacimiento.
- Sexo.
- Número pacientes con infección por VIH en seguimiento en cada Unidad, para cada año de seguimiento, en función de las bases de datos de pacientes con infección por VIH cada centro y registros de farmacia de administración de tratamiento antirretroviral.

2. Variables relacionadas con la infección por VIH.

- Fecha de diagnóstico de la infección por VIH.
- Vía transmisión VIH: usuario de drogas vía parenteral, homosexual, heterosexual, transmisión vertical, desconocido.
- Estadio CDC.
- Nadir de linfocitos CD4⁺.
- Tratamiento antirretroviral previo al diagnóstico de CHC.

- Recuento de linfocitos CD4⁺ y carga viral plasmática de VIH al diagnóstico de hepatocarcinoma.
- Tratamiento antirretroviral: administración de tratamiento previo al diagnóstico y en la fecha del diagnóstico del CHC.

3. Variables relacionadas con la hepatopatía

- Etiología: Consumo de alcohol (expresado en gramos/día), coinfección virus hepatitis: hepatitis B, hepatitis D, hepatitis C y coinfección VHB-VHC y otras causas de hepatopatía.
- En pacientes con infección por VHB: tratamiento previo, carga viral de VHB al diagnóstico de CHC.
- En pacientes con infección por VHC:
 - Genotipo.
 - Tratamiento previo: fecha de tratamiento (inicio y fin), tratamiento administrado, respuesta viral sostenida y carga viral plasmática de VHC al diagnóstico de CHC.
- Estadio enfermedad hepática
 - Cirrosis: presencia o ausencia. Método diagnóstico (clínico, biopsia o elastografía hepática) y fecha: categorización como previo o simultáneo al diagnóstico de CHC .
 - En pacientes con cirrosis: clasificación Child-Turcotte-Pugh, descompensación hepática previa, fecha y tipo: ascitis,

peritonitis bacteriana espontánea, hemorragia digestiva y encefalopatía .

- Programa de *screening*: se consideraba que un paciente estaba dentro del programa de *screening*, en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática, con realización de ecografía semestral, o al menos una ecografía en los 6 meses previos al diagnóstico de CHC.

4. Variables relacionadas con el hepatocarcinoma

- Fecha de diagnóstico.
- Realización de diagnóstico, basado en
 - Sospecha clínica: síntomas clínicos secundarios al CHC.
 - Programa de cribado de CHC.
 - Fecha de la última TAC o ecografía previa sin lesiones ocupantes de espacio hepáticas.
- Método diagnóstico
 - Ecografía hepática.
 - TAC abdominal.
 - RM abdominal.
 - Biopsia hepática.
- Características del tumor:
 - Número de lesiones: lesión única, múltiples (menor o igual a 3) o multinodular (número superior a 3).

- Diámetro de la lesión de mayor tamaño.
 - Presencia de trombosis portal.
 - Metástasis a distancia.
 - *Performance status* según la clasificación ECOG.
- Estadio: Se estratificó según el estadio BCLC (*Barcelona Clinic Liver Cancer group*).
 - Estadio 0: Ca *in situ*, tumor < 2 cm.
 - Estadio A: cumplimiento de todos los criterios: lesión única < 5 cm o tres lesiones nodulares todas < 3 cm, con Child-Pugh A o B, ausencia de hipertensión portal significativa y bilirrubina dentro de los límites de la normalidad. Ausencia de trombosis portal o lesiones extrahepáticas.
 - Estadio B: cumplimiento de todos los criterios: una o más lesiones nodulares grandes (>5 cm) o pacientes asintomáticos con enfermedad multifocal sin invasión vascular ni lesiones extrahepáticas y con estadio Child-Pugh A/B.
 - Estadio C: pacientes que no cumplen los criterios del estadio B. Pacientes sintomáticos, con *performance status* 1-2, con invasión vascular o extensión extra-hepática.
 - Estadio D: disfunción hepática severa (Child-Pugh C) o estado general *performance status* 3-4 .

- Cumplimiento Criterios de Milán: Nódulo único < 5 cm o máximo tres nódulos < 3 cm, sin invasión vascular ni afectación extrahepática.
- Datos analíticos: AST,ALT, GGT, LDH, Fosfatasa Alcalina, bilirrubina (total e indirecta), albúmina, INR y tiempo de protrombina, leucocitos y plaquetas al diagnóstico del hepatocarcinoma.
- Tratamiento administrado y fecha: clasificado en curativo/no curativo se categorizó según establece la guía de práctica clínica de la AASLD.
 - Potencialmente curativo: trasplante, resección quirúrgica, ablación por radiofrecuencia e inyección percutánea etanol.
 - No curativo: quimioembolización transarterial y sorafenib.
- Evolución: estatus vital (*exitus*, vivo) obtenido de las historias clínicas o mediante llamada telefónica al cierre de las bases de datos, fecha (*exitus* o último contacto con el paciente). En caso de muerte: causa hepática u otras causas.

Recogida de variables

Las variables fueron obtenidas de la historia clínica de los pacientes de forma retrospectiva. Se creó una base de datos en SPSS que fue remitida a cada centro para la recogida de variables.

Posteriormente los dos coordinadores: Nicolás Merchante y Esperanza Merino, generaron una base de datos común, con revisión y depuración de las variables, así como consulta telefónica con los centros participantes en caso de dudas con la recogida de variables.

Análisis estadístico

Para el primer objetivo de determinar la incidencia de CHC en pacientes con infección por VIH, se calculó la densidad de incidencia como el número de nuevos casos registrados en relación al número de pacientes con infección por VIH en seguimiento para cada año, expresado como incidencia por 1.000 personas-año para cada año del calendario. La fecha del diagnóstico de CHC fue cuando el paciente cumplía por primera vez los criterios diagnósticos de CHC AASLD 2005/2010.

Para el segundo objetivo se analizaron las principales características del CHC para lo que se incluyeron las siguientes variables: edad, género, factor de riesgo para la infección por VIH, fecha estimada o conocida de infección por VIH, serología VHC, genotipo y carga viral del VHC, tratamiento previo para VHC y tipo de respuesta, marcadores serológicos de infección por VHB, consumo previo alcohol, nivel de linfocitos CD4⁺, TAR previo, evidencia clínica, radiológica o histológica de cirrosis hepática al diagnóstico del CHC, estadio Child-Pugh, nivel AFP, número de las lesiones hepáticas, y diámetro de la lesión de mayor tamaño, presencia de masa infiltrante, evidencia de trombosis portal o

metástasis extrahepáticas, criterios de Milán para trasplante hepático, estadio del CHC al diagnóstico según el BCLC, modalidad de tratamiento administrado, incluyendo ausencia de terapia y estado vital. Se consideraron dos tipos de diagnóstico: (1) diagnóstico en programa de cribado, cuando el diagnóstico se realizaba en un test de *screening* (ecografía semestral), (2) diagnóstico clínico, cuando la realización de la prueba de imagen estaba indicada por síntomas clínicos.

Las variables continuas se expresaron como medianas con el rango intercuartil (IQR) y las variables categóricas se expresan con el número absoluto, porcentaje e intervalo de confianza del 95% (IC95). Se estableció una comparación entre las características de los CHC diagnosticados antes y después del 31 de diciembre de 2004. Las variables continuas fueron comparadas utilizando la *t de Student* o el test de *Mann-Whitney*, dependiendo del tipo de distribución. Las variables categóricas fueron comparadas utilizando bien con la prueba de *Ji cuadrado* o en el caso que fuera necesario con el test exacto de *Fisher*.

Para el estudio de supervivencia, se consideró el punto de tiempo basal como la fecha de diagnóstico del CHC. El punto final o del evento, se midió como el tiempo transcurrido en meses desde el punto basal hasta la fecha de muerte, pérdida del seguimiento o fin del estudio (cierre del estudio: 31 de diciembre de 2010). La estimación de la función de supervivencia se realizó con el método de *Kaplan-Meier* y

para la comparación de las funciones de supervivencia se utilizó el test de log-Rank.

Para el tercer objetivo, en el que se amplió el número de pacientes incluidos respecto a los dos objetivos previos (artículo 2), se realizó de nuevo y de la misma forma, un análisis de las variables del CHC con expresión de las variables continuas como medias (Q1-Q3) y las variables categóricas como números absolutos y porcentajes. Se estableció una comparación entre los pacientes con diagnóstico de CHC en función de presentar o no respuesta viral sostenida previa. La comparación de las variables continuas fue realizado utilizando el *t de Student* o el test de *Mann-Whitney*, dependiendo del tipo de distribución, y entre las variables categóricas mediante la prueba de Ji cuadrado o test de *Fischer*.

La supervivencia fue analizada igual que en el análisis anterior, utilizando como punto basal la fecha de diagnóstico del CHC y el tiempo hasta el evento considerando la fecha de muerte, pérdida del seguimiento o de fin del estudio (31 diciembre de 2012). Se estimó la función de de supervivencia mediante curvas de *Kaplan Meier*, con comparación de la funciones de supervivencia mediante el test *log-rank*.

Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el *Statistical Software Package* (IBM-SPSS 19.0 Chicago, Illinois,USA).

Aspectos éticos

El estudio fue diseñado y realizado siguiendo los principios de la declaración de Helsinki. El Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario de Valme (Sevilla) y del Hospital General Universitario de Alicante aprobaron la realización del estudio.

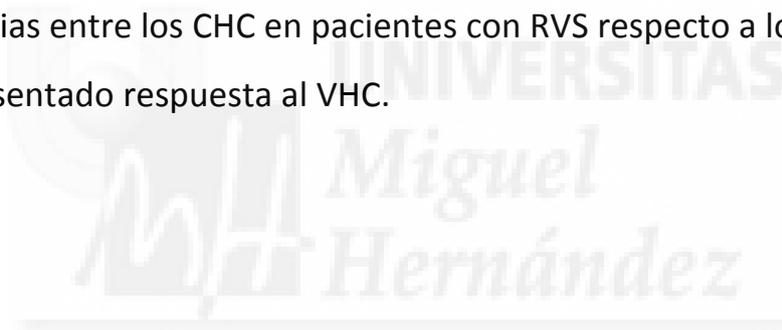
Limitaciones del estudio

La principal limitación de ambas cohortes es que el registro de los casos de hepatocarcinoma se ha realizado de forma retrospectiva. Esto condiciona en primer lugar, un posible sesgo en el estudio de la incidencia, por lo que no podemos excluir la pérdida de algunos casos de CHC, principalmente en los primeros años, lo que reduciría la incidencia registrada en este período. Para ello, dada la importancia de registrar todos los casos, se realizó una exhaustiva búsqueda mediante las bases de datos de los registros de pacientes con infección por VIH, así como las bases de datos de documentación clínica hospitalaria, puesto que con elevada probabilidad estos pacientes han precisado ingreso hospitalario, quedando registrado en la codificación CIE-19MD.

Para garantizar la calidad de los datos, se revisó por parte de los dos investigadores principales, todas las variables, con solicitud directamente al centro de variables no registradas o dudosas. Los análisis de supervivencia deben interpretarse con cautela, dado el carácter retrospectivo del estudio, aunque para garantizar la calidad de

los registros se realizó un seguimiento mediante historia electrónica ambulatoria y hospitalaria, así como llamadas telefónicas que permitiera establecer el seguimiento hasta la fecha de final del estudio.

En cuanto a los pacientes con RVS y CHC, la principal limitación se plantea por la posibilidad de otros factores asociados para el desarrollo de CHC, como un consumo de alcohol importante que, aunque fue recogido como una variable, no puede ser excluido con total seguridad. El estudio, al disponer de bajo número de casos, no tiene poder estadístico suficiente para establecer asociaciones, o detectar las diferencias entre los CHC en pacientes con RVS respecto a los que no han presentado respuesta al VHC.







RESULTADOS



Resultados

Artículo 1

N. Merchante, E. Merino, J López-Aldeguer, F. Jover, M. Delgado-Fernández, M.J. Galindo, E. Ortega, A. Rivero, C. Mínguez, A. Romero-Palacios, S. Padilla, M. Márquez-Solero, C. Amador, M.J. Ríos-Villegas, F. Téllez, J. Portilla, J. Pineda.

Increasing Incidence of Hepatocellular Carcinoma in HIV-Infected Patients in Spain.

Clin Infectious Diseases 2013;56(1):143-50

Resumen de los resultados

Se incluyeron todos los pacientes con infección por VIH y diagnóstico de hepatocarcinoma en 18 hospitales de Andalucía y de la Comunidad Valenciana en el período de 1999 a diciembre 2010, así como el número de pacientes con infección por VIH en seguimiento para cada uno de los centros y para cada año del período de estudio. En total se diagnosticaron 82 pacientes con CHC e infección por VIH . El número de casos aumentó gradualmente a lo largo década que duró el seguimiento, con diagnóstico de dieciséis casos (19.5%) en el período 1999-2004 y 66 nuevos casos (80.5%) entre 2005-2010. La densidad de incidencia fue calculada en función de la población con infección VIH en seguimiento, con un incremento desde 0-0,6 casos por 1.000 personas-

año hasta 2003 hasta 2,8 por 1.000 personas-año en 2008-2009, como se detalla en la tabla.

Table 2. Incidence Density Rate of Hepatocellular Carcinoma in the Overall Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Infected Population and in HIV/Hepatitis C Virus-Coinfected Patients by Calendar Year (n = 82)

	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
HIV-infected population												
HCC cases, No.	1	1	1	3	2	8	7	8	10	17	16	8
Patients at follow-up, No.	10 138	10 397	10 688	10 851	11 237	11 373	12 331	13 182	13 401	13 728	13 866	14 258
HCC incidence density rate, cases/1000 person-years	0.1	0.1	0.1	0.3	0.2	0.7	0.6	0.7	0.7	1.2	1.1	0.6
HIV/HCV-coinfected patients												
HCC cases, No.	0	1	1	3	2	8	6	7	10	15	15	8
Patients at follow-up, No.	4623	4740	4776	4818	4936	4901	5146	5414	5451	5420	5439	5386
HCC incidence density rate, cases/1000 person-years	0	0.2	0.2	0.6	0.4	1.6	1.3	1.4	1.8	2.8	2.8	1.4

Abbreviations: HCC, hepatocellular carcinoma; HCV, hepatitis C virus; HIV, human immunodeficiency virus.

En cuanto a las características clínicas de los 82 casos, la edad media fue de 47 (45-51) años, con predominio de varones (90%), ingesta ética >50 gr/día en el 40% y antecedentes de consumo de drogas vía parenteral en el 78%. El 81 % presentaban coinfección por VHC, 7% por VHB y ambos (VHB-VHC) en el 12%. De los pacientes con infección por VHC: 50% presentaban genotipo 1, 36% genotipo 3, 11% genotipo 4 y u 2% genotipo 2. La media de linfocitos CD4⁺ al diagnóstico del CHC fue de 273 (194-385) / mm³ y el 83% de los pacientes recibían TAR.

La mayor parte de los CHC fueron diagnosticados en base a síntomas clínicos y sólo en 26 pacientes (32%) mediante programas de cribado, por lo que la mayor proporción fueron diagnosticados en estadios avanzados. Así, el CHC fue multinodular en el 60%, con trombosis portal

casi en un tercio de los pacientes y con metástasis extrahepáticas en el 16%. La distribución en los diferentes estadios de la clasificación BCLC para los 82 pacientes incluidos fue: 24 (33%) en estadio A, 15 (20%) estadio B, 27 (36%) en estadio C y 8 (11%) en estadio D, por lo que la mitad eran diagnosticados en los estadios avanzados (C o D) y sólo el 30% cumplían los criterios para trasplante hepático al diagnóstico.

Tras el diagnóstico, el 40% (33 pacientes) recibieron tratamiento para el CHC, de ellos once con tratamientos potencialmente curativos: un paciente con resección quirúrgica, seis con trasplantes, uno con ablación por radiofrecuencia y uno mediante inyección con etanol. Veintidós pacientes recibieron tratamientos no-curativos: 16 con quimioembolización transarterial y seis con sorafenib.

El pronóstico fue malo, con una mortalidad en el tiempo de seguimiento del 79% y una supervivencia media tras el diagnóstico de 91 (31-227) días. La muerte estuvo relacionada con el CHC excepto en dos pacientes (uno por shock séptico y otro por neumonía por *P. jirovecii*). La mortalidad para el grupo que recibió tratamiento potencialmente curativo fue del 28%, mientras que fue del 87% para los que no lo recibieron, con diferencia estadísticamente significativa de las curvas de supervivencia (ver figura).

Probabilidad de supervivencia en función del tratamiento administrado

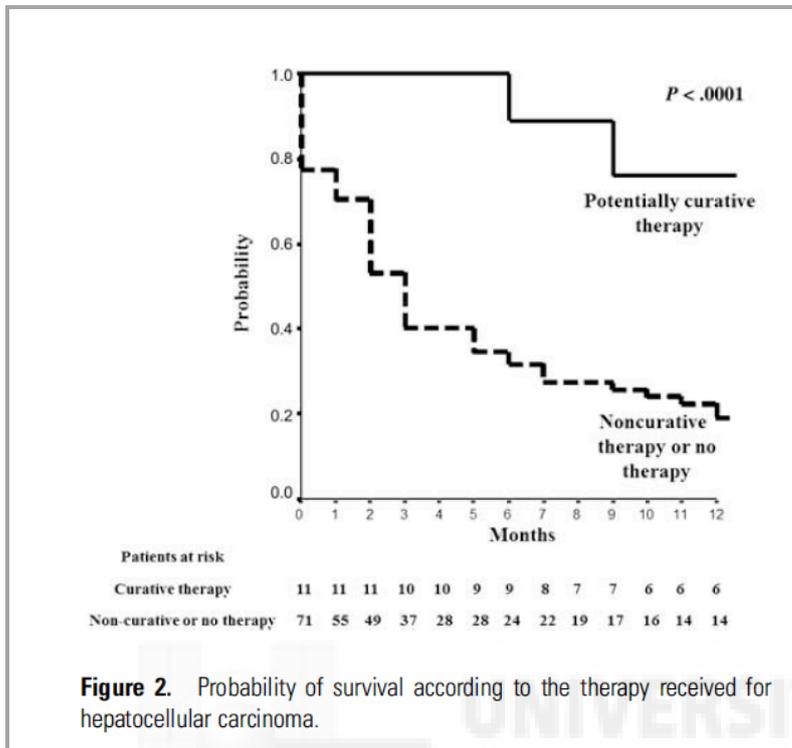


Figure 2. Probability of survival according to the therapy received for hepatocellular carcinoma.

Los pacientes con diagnóstico de CHC en programa de *screening* presentaron una supervivencia de 22 (6-42) meses, en relación con la mayor administración de tratamiento potencialmente curativo.

Se realizó un estudio comparativo entre los casos diagnosticados antes y después de 2005, y aunque entre los casos diagnosticados en el período 2005-2010 la frecuencia de CHC uninodular al debut, el cumplimiento de los criterios de Milán y la administración de tratamiento (de cualquier tipo) fue más frecuente, no alcanzó significación estadística.

Por otra parte, el pronóstico entre los pacientes diagnosticados en ambos períodos fue similar con probabilidad de supervivencia al mes 3,6 y 12 del 69%, 50% y 38% respectivamente para diagnóstico previo al 2005, comparado con el 57%, 41% y 27% para el segundo período ($p= 0.6$).

Conclusiones

El hepatocarcinoma emerge como una complicación de la hepatopatía crónica en pacientes con infección por VIH, especialmente en aquellos infectados por VHC, con un intenso aumento de la incidencia en los últimos años.

El hepatocarcinoma se diagnostica en estadios avanzados lo que conlleva elevada mortalidad asociada. No hemos observado cambios en la última década respecto al diagnóstico en estadios avanzados.

El diagnóstico precoz permite la administración de tratamiento curativo y se asocia con mejor pronóstico.

La implementación de los programas de detección precoz del CHC es básica para mejorar la supervivencia de estos pacientes.



Increasing Incidence of Hepatocellular Carcinoma in HIV-Infected Patients in Spain

Nicolás Merchante,^{1,a} Esperanza Merino,³ José López-Aldeguer,⁷ Francisco Jover,⁴ Marcial Delgado-Fernández,^{10,a} María José Galindo,⁸ Enrique Ortega,⁹ Antonio Rivero,^{12,a} Carlos Mínguez,¹³ Alberto Romero-Palacios,^{14,a} Sergio Padilla,⁵ Manuel Márquez-Solero,^{11,a} Concepción Amador,⁶ María José Ríos-Villegas,^{2,a} Francisco Téllez,^{15,a} Joaquín Portilla,³ and Juan A. Pineda^{1,a}

¹Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología, Hospital Universitario de Valme, and ²Sección de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla; ³Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital General Universitario de Alicante; ⁴Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Clínico Universitario de San Juan, Alicante; ⁵Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital General de Elche; ⁶Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Marina Baixa, Villajoyosa, Alicante; and ⁷Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, and ⁸Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Clínico de Valencia; ⁹Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital General de Valencia; ¹⁰Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Regional Carlos Haya, and ¹¹Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Virgen de la Victoria, Málaga; ¹²Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba, and Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba; ¹³Servicio de Medicina Interna, Hospital General de Castellón; and ¹⁴Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario de Puerto Real; and ¹⁵Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital de La Línea de la Concepción, Cádiz, Spain

Background. To report the clinical and epidemiological characteristics of hepatocellular carcinoma (HCC) diagnosed in a cohort of human immunodeficiency virus (HIV)-infected patients in Spain.

Methods. All HIV-infected patients diagnosed of HCC in 18 hospitals in Spain before 31 December 2010 were included. The main characteristics of HCC cases are described and comparisons between cases according to the year of diagnosis are presented.

Results. Eighty-two cases of HCC in HIV-infected patients were included, all of them related to viral hepatitis coinfection: hepatitis C virus (HCV) in 66 (81%), hepatitis B virus (HBV) in 6 (7%), and HBV/HCV in 10 (12%). From 1999, when the first case of HCC was diagnosed, a progressive increment in the incidence of HCC in the cohort has occurred. In patients coinfecting with HIV/HCV-coinfecting patients, the incidence HCC increased from 0.2 to 2.8 cases per 1000 person-years between 2000 and 2009. Death occurred in 65 patients (79%), with a median survival of 91 days (interquartile range, 31–227 days). Three of 11 patients (28%) who received potentially curative therapy died, compared with 62 of 71 patients (87%) who did not receive curative therapy ($P = .0001$). Compared with cases of HCC diagnosed before 2005, cases diagnosed later did not show a higher survival rate.

Conclusions. HCC is an emerging complication of cirrhosis in HIV-infected patients. A sharp increase in its incidence has occurred in those also infected by HCV in the recent years. Unfortunately, HCC is frequently diagnosed at an advanced stage, and mortality continues to be very high, with no significant changes in recent years. Earlier diagnosis, which may allow potentially curative therapy, is necessary.

Keywords. HIV; hepatitis C virus; hepatocellular carcinoma; cirrhosis; liver transplantation.

Received 28 March 2012; accepted 28 August 2012; electronically published 5 September 2012.

^aMembers of Grupo Andaluz para el Estudio de las Hepatitis Virales (HEPAVIR) de la Sociedad Andaluza de Enfermedades Infecciosas (SAEI).

Correspondence: Juan A. Pineda, Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario de Valme, Avenida de Bellavista s/n, Sevilla 41014, Spain (jpineda@telefonica.net).

Clinical Infectious Diseases 2013;56(1):143–50

© The Author 2012. Published by Oxford University Press on behalf of the Infectious Diseases Society of America. All rights reserved. For Permissions, please e-mail: journals.permissions@oup.com.
DOI: 10.1093/cid/cis777

With the introduction of highly active antiretroviral therapy (ART) and the subsequent reduction of AIDS-associated mortality, human immunodeficiency virus (HIV) infection has become a chronic illness. This has been accompanied by an increase of end-stage liver disease (ESLD)-related mortality in Western countries, mainly due to chronic hepatitis C virus (HCV) infection [1–3]. Solid evidence from the last decade has highlighted that the natural history of

HCV-related ESLD is accelerated in the setting of HIV infection [4, 5], with poor rates of survival [6].

Hepatocellular carcinoma (HCC) is mainly driven by hepatitis coinfection in the HIV-infected patient. It has been suggested that the time from HCV infection to the development of HCC is shorter in the setting of HIV infection [7–9]. However, it remains controversial whether the incidence of HCC is higher in HCV-infected patients also infected with HIV. In one retrospective cohort study, HIV did not increase the risk of developing HCC [10]. In another survey, among 1217 patients with HCV-related ESLD, 180 of them coinfecting with HIV, the incidence of HCC was significantly lower in the HIV-coinfecting group [11]. Another cohort study has shown similar results [12].

The reasons for this low incidence of HCC among HIV/HCV-coinfecting patients are unclear. There is some consensus [13–15] that HIV probably shortens the survival of patients with HCV-related ESLD enough that HCC, a late complication of liver cirrhosis [16–18], hardly has a chance to emerge. For this reason, some experts have suggested that the incidence of HCC could increase in the next years as a consequence of the effect of highly active ART on survival [19]. The Mortalité Study in France [20] has reported a 10-fold increase in the mortality attributable to HCC in HIV-infected individuals from 2000 to 2005. In contrast, we have reported in a previous analysis of the HEPAVIR cohort of HIV/HCV-coinfecting patients from Andalusia (Spain) that HCC represented only 2% of the initial decompensations of ESLD and 3% of liver-related deaths in 2005 [3]. The objective of our study was to report the clinical and epidemiological characteristics of the cases of HCC diagnosed in a cohort of HIV-infected patients in Spain.

METHODS

Study Design, Patients and Data Collection

This study includes the cases of HCC diagnosed in 18 hospitals from 2 regions of Spain before 31 December 2010. Patients were included in this study if they met the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) 2005 criteria for the diagnosis of HCC [21]. HCC cases were identified from specific databases of HIV-infected patients from the participant centers and by using the database of the clinical documentation services of each institution. In addition, a systematic search of the local cancer registry for cases of HCC was performed in each hospital. Information obtained from clinical records was included in a common database, specifically created for this study. Vital status and causes of death were established from database and clinical records. Patients lost to follow-up or their next of kin were contacted via telephone to assess their vital status.

Statistical Analysis

The incidence density rate of HCC was calculated as the number of registered new cases per 1000 person-years in each calendar year. The date of HCC diagnosis was the date when the patient first met the AASLD 2005 criteria for HCC.

The main characteristics of HCC cases were further analyzed. For these analyses, the following variables were collected and included: age, sex, risk factor for HIV infection, known or estimated date of HIV transmission, positive anti-HCV antibodies, HCV genotype and HCV viral load, previous therapy against HCV and type of response, hepatitis B virus (HBV) surface antigen, previous alcohol consumption, CD4 cell count, previous ART, clinical, radiological, or histological evidence of cirrhosis at the moment of HCC diagnosis and Child-Turcotte-Pugh stage, α -fetoprotein level, number of liver mass lesions, diameter of the largest lesion, presence of an infiltrating mass, evidence of portal thrombosis or extrahepatic metastases, Milan criteria for liver transplantation [22], stage of HCC at diagnosis as established by the Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) staging system [23], modality of therapy against HCC given, including absence of therapy and vital status. For analyses, HCC diagnosis was divided into 2 categories: diagnosis made by screening or clinical diagnosis. For the first category, HCC diagnosis had to be established on the basis of an initial abnormal finding on a routine α -fetoprotein determination or ultrasound examination in the absence of symptoms. Otherwise, the HCC diagnosis was considered clinical. HCC surveillance was done according to the caring physician criteria, based on consensus recommendations in effect during the study period. Recommendations from the AASLD 2005 practice guidelines [21] were adopted in the cohort after their publication. Therapy against HCC was categorized as curative or noncurative, as established by the updated AASLD practice guidelines [24].

Continuous variables are expressed as medians (interquartile range [IQR]). Categorical variables are presented as numbers (percentage; 95% confidence interval). A comparison was made between the characteristics of HCC cases diagnosed before or after 31 December 2004. Continuous variables were compared using the Student *t* test or Mann-Whitney *U* test, depending on the normality of distributions. Categorical variables were compared using the χ^2 test or the Fisher test, when appropriate.

Finally, the survival of HCC case patients was analyzed. For this analysis, the baseline time point was considered to be the date of HCC diagnosis, defined as the date when the patient first met AASLD 2005 criteria of HCC. The time to event was computed as the months elapsed from this time point to the date of death, loss to follow-up, or 31 December 2010. Kaplan-Meier estimates of the cumulative probability of survival were used, and survival curves were compared using the log-rank test. The statistical analysis was carried out using the SPSS 19 Statistical Software Package (SPSS) and Stata SE 9.0 (Statacorp).

Table 1. Characteristics of the Study Population (n = 82)

Parameter	Value
Age, median (IQR), years	47 (45–51)
Male sex, No. (%)	74 (90)
Daily alcohol intake >50 g/d, No. (%)	33 (40)
Previous intravenous drug users, No. (%)	64 (78)
Hepatitis coinfection, No. (%)	
Hepatitis C	66 (81)
Hepatitis B	6 (7)
Hepatitis B and C	10 (12)
HCV genotype, No. (%) ^a	
1	28 (50)
2	1 (2)
3	20 (36)
4	6 (11)
CD4 cell count, median (IQR), cells/mL ^b	273 (194–385)
Previous ART, No. (%)	68 (83)
α -fetoprotein, median (IQR), ng/mL ^c	152 (9–931)
Child-Turcotte-Pugh class, No. (%) ^d	
A	33 (43)
B	24 (31)
C	20 (26)
BCLC stage, No. (%) ^e	
A	24 (33)
B	15 (20)
C	27 (36)
D	8 (11)

Abbreviations: ART, antiretroviral therapy; BCLC, Barcelona Clinic Liver Cancer; HCV, hepatitis C virus; IQR, interquartile range.

^a Data available in 55 patients.

^b Data available in 68 patients.

^c Data available in 79 patients.

^d Data available in 77 patients.

^e Data available in 74 patients.

Ethical Aspects

The study was designed and conducted following the Helsinki declaration. The ethics committee of the Hospital Universitario de Valme approved this study.

RESULTS

Features of the Study Population

Eighty-two cases of HCC in HIV-infected patients were diagnosed in the participant hospitals before 31 December 2010. The main characteristics of the population are depicted in Table 1. In all instances, HCC was related to viral hepatitis coinfection. Namely, 66 patients (81%) were coinfecting by HCV, 6 (7%) by HBV, and 10 (12%) by both HBV and HCV. Twenty-two (29%) of 76 HIV/HCV-coinfecting patients had previously been treated for HCV. Six of these patients had achieved sustained virological response (SVR), with a median of 28 months (IQR, 18–33 months) elapsed from SVR to HCC diagnosis. None of these patients reported previous excessive alcohol consumption, and only 1 was also infected by HBV. At the time of HCC diagnosis, 77 patients (94%) had clinical, sonographic, or histological evidence of liver cirrhosis. Forty-four patients (56%) had an α -fetoprotein <200 ng/mL at the time of HCC diagnosis.

Incidence Density Rate of HCC Over Time

Since 1999, when the first case of HCC in an HIV-infected patient in the participant hospitals was reported, the frequency of such diagnosis has steadily increased, with a dramatic increment in the last few years. In fact, whereas only 16 cases of HCC (19.5%) were diagnosed in HIV-infected patients before 31 December 2004, 66 new cases (80.5%) have been diagnosed

Table 2. Incidence Density Rate of Hepatocellular Carcinoma in the Overall Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Infected Population and in HIV/Hepatitis C Virus–Coinfecting Patients by Calendar Year (n = 82)

	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
HIV-infected population												
HCC cases, No.	1	1	1	3	2	8	7	8	10	17	16	8
Patients at follow-up, No.	10 138	10 397	10 688	10 851	11 237	11 373	12 331	13 182	13 401	13 728	13 866	14 258
HCC incidence density rate, cases/1000 person-years	0.1	0.1	0.1	0.3	0.2	0.7	0.6	0.7	0.7	1.2	1.1	0.6
HIV/HCV-coinfecting patients												
HCC cases, No.	0	1	1	3	2	8	6	7	10	15	15	8
Patients at follow-up, No.	4623	4740	4776	4818	4936	4901	5146	5414	5451	5420	5439	5386
HCC incidence density rate, cases/1000 person-years	0	0.2	0.2	0.6	0.4	1.6	1.3	1.4	1.8	2.8	2.8	1.4

Abbreviations: HCC, hepatocellular carcinoma; HCV, hepatitis C virus; HIV, human immunodeficiency virus.

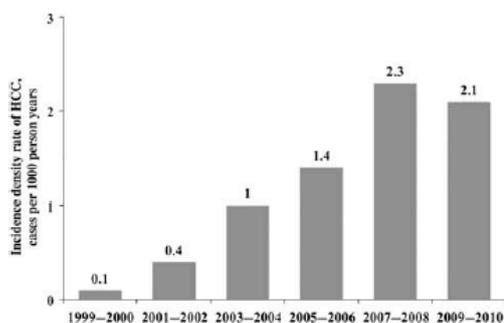


Figure 1. Evolution of the incidence density rate of hepatocellular carcinoma in patients coinfected with human immunodeficiency virus and hepatitis C virus during the study period ($n = 76$). Abbreviation: HCC, hepatocellular carcinoma.

since this date. Consequently, the incidence density rate of HCC in the overall HIV-infected population has increased during the last decade (Table 2). This increment was more evident in the HIV/HCV-coinfected population (Table 2 and Figure 1). Thus, whereas the incidence density rate of HCC was between 0 and 0.6 cases per 1000 person-years until 2003, the respective figure in 2008 and 2009 was 2.8 cases per 1000 person-years (Table 2).

Staging, Management, and Prognosis

The main characteristics of HCC staging and treatment are depicted in Table 3. HCC was diagnosed in the majority of cases on the basis of symptoms. In fact, HCC was diagnosed at routine screening in only 26 patients (32%). HCC was diagnosed at an advanced stage in a large proportion of patients. Thus, HCC was multifocal at diagnosis in 49 patients (60%) and was complicated by portal thrombosis or extrahepatic metastases in 24 (29%) and 13 (16%), respectively. Consequently, only 25 patients (30%) met the Milan criteria for liver transplantation at diagnosis. Finally, 35 (47%) showed advanced stages (C or D) with the BCLC staging system at initial presentation.

After diagnosis, 33 patients (40%) received therapy for HCC. Of these patients, 11 received potentially curative therapy (surgical resection in 1, liver transplantation in 6, radiofrequency ablation in 1, and ethanol injections in 3) and 22 received noncurative therapy (transarterial chemoembolization in 16 and sorafenib in 6).

The prognosis for HCC was very poor in almost all cases. Thus, 65 patients (79%) died after diagnosis of HCC, with a median survival of 91 days (IQR, 31–227 days). Death was HCC related in all except 2 patients, who died of septic shock and *Pneumocystis jiroveci* pneumonia, respectively. Three of

11 patients (28%) who received potentially curative therapy died, compared with 62 of 71 (87%) who did not receive curative therapy. The median survival after HCC diagnosis was significantly shorter in those individuals who did not receive therapy or received noncurative therapy than in those who received potentially curative therapy (Figure 2). The median survival was 22 months (IQR, 6–42 months) in patients whose HCC diagnosed at screening, compared with 2 months (IQR, 0–7 months) in those whose HCC was diagnosed on the basis of symptoms ($P < .0001$).

Comparison Between HCC Cases Before or After 2005

Table 3 summarizes the main characteristics of HCC cases according to the calendar year of diagnosis. Compared with cases diagnosed before 2005, HCC cases diagnosed later were more likely to be unilobar at presentation, meet Milan criteria, and receive therapy, although these differences did not reach statistical significance. However, HCC prognosis did not improve in the second period. Namely, the probability of survival at 3, 6, and 12 months was 69%, 50%, and 38%, respectively, in patients with HCC diagnosed before 2005, compared with 57%, 41%, and 27% in those with HCC diagnosed in 2005–2010 ($P = .6$). Figure 3 shows the probability of survival according to the period of HCC diagnosis.

DISCUSSION

This study suggests that the incidence of HCC is increasing in HIV-infected patients in recent years in Spain. In fact, whereas only 16 cases of HCC were diagnosed in our cohort before 31 December 2004, there have been 66 new diagnosis of HCC in the last 6 years. This has resulted in a progressive increase in the incidence of HCC among our study population during the last decade. This observation was mainly driven by a notable rise of the incidence of HCC among HIV/HCV-coinfected patients. Remarkably, the incidence of HCC in this population has increased by a factor of 14 from 2000 to 2009. These results are in agreement with a previous report in France indicating that HCC is emerging as a leading cause of liver-associated death in HIV/HCV-coinfected patients [20]. In fact, HCC due to HCV infection has become the fastest rising cause of cancer-related death in the United States, and its incidence has tripled during the past 2 decades [25]. Our results confirm that HCC is an emerging complication of chronic liver disease in HIV-infected patients, especially in those also infected by HCV.

The increasing incidence of HCC in HIV-infected patients may be due to multiple factors, as has been hypothesized by some experts [13]. First, potent ART has improved the survival of HIV-infected individuals long enough to allow HCC, a late complication of cirrhosis [16–18], to emerge in patients with known risk factors for HCC, such as prolonged ethanol

Table 3. Main Features of Hepatocellular Carcinoma Cases According to Date of Diagnosis (n = 82)

Parameter	Patients With HCC, No. (%)			P Bivariate
	Overall Population (n = 82)	Diagnosis Before 2005 (n = 16)	Diagnosis in 2005–2010 (n = 66)	
Age				
<50 years	54 (66)	8 (50)	46 (70)	.1
≥50 years	28 (34)	8 (50)	20 (30)	
CD4 cell count^a				
<200 cells/mL	22 (32)	4 (31)	18 (33)	.9
≥200 cells/mL	46 (68)	9 (69)	37 (67)	
Previous therapy against hepatitis C				
No	46 (67)	8 (57)	38 (70)	.3
Yes	22 (32)	6 (43)	16 (30)	
Child-Turcotte-Pugh class^b				
A	33 (43)	6 (46)	27 (42)	.8
B or C	54 (57)	7 (54)	37 (48)	
Diagnosis at screening				
No	56 (68)	12 (75)	44 (67)	.5
Yes	26 (32)	4 (25)	22 (33)	
Nodules at diagnosis				
Solitary	33 (40)	4 (25)	29 (44)	.1
Multiple	49 (60)	12 (75)	37 (56)	
Size of largest lesion				
<5 cm	25 (30)	2 (12)	23 (35)	.08
≥5 cm	57 (70)	14 (88)	43 (65)	
Portal thrombosis				
No	58 (71)	14 (87)	44 (67)	.08
Yes	24 (29)	2 (13)	22 (33)	
Extrahepatic metastases				
No	69 (84)	14 (87)	55 (83)	1.0
Yes	13 (16)	2 (13)	11 (17)	
Milan criteria				
No	57 (70)	14 (87)	43 (65)	.08
Yes	25 (30)	2 (13)	23 (35)	
α-fetoprotein level^c				
<200 ng/mL	44 (56)	10 (67)	34 (53)	.3
≥200 ng/mL	35 (44)	5 (33)	30 (47)	
BCLC stage^d				
A–B	39 (53)	5 (42)	34 (55)	.4
C–D	35 (47)	7 (58)	28 (45)	
Therapy against HCC				
Potentially curative	11 (13)	1 (6)	10 (15)	.1
Noncurative	22 (27)	3 (19)	19 (29)	
None	49 (60)	12 (75)	37 (56)	

Abbreviations: BCLC, Barcelona Clinic Liver Cancer; HCC, hepatocellular carcinoma.

^a Data available in 68 patients.

^b Data available in 77 patients.

^c Data available in 79 patients.

^d Data available in 74 patients.

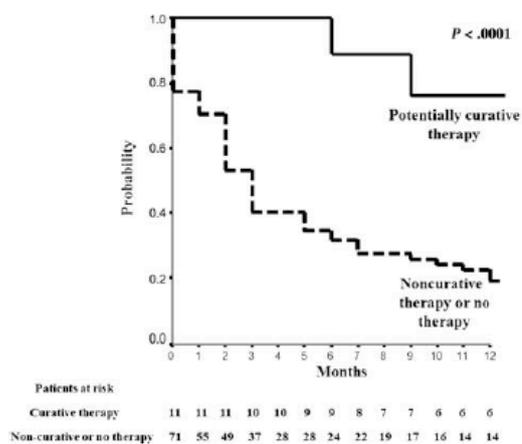


Figure 2. Probability of survival according to the therapy received for hepatocellular carcinoma.

consumption or chronic viral hepatitis. Second, the efficacy of antiviral therapy against HCV in persons living with HIV has been low across all studies, with overall rates of SVR ranging to 41% to 52% [26]. Third, in vitro and animal studies have suggested that HIV may play a role in viral hepatitis and alcohol-induced hepatocarcinogenesis mediated via the Tat protein [27]. Finally, the management of liver cirrhosis by clinicians attending HIV-infected patients has probably improved in the last decade with the increasing burden of liver disease in the HIV-infected population. This may lead to a

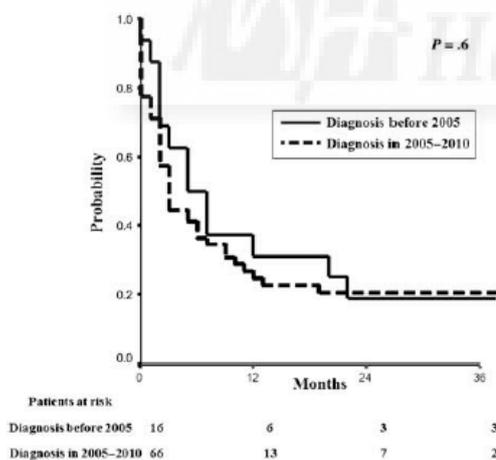


Figure 3. Probability of survival according to the year of hepatocellular carcinoma diagnosis.

better management and prevention of other liver decompensations, resulting in longer survival of HIV-infected patients with cirrhosis, which enables HCC to develop.

Previous reports have suggested that, compared with findings in patients without HIV infection, HCC in HIV-infected patients is more frequently symptomatic, multilobar or invasive, and advanced in stage at the time of diagnosis [9, 28]. HCC cases were diagnosed at an advanced stage in a large proportion of patients in our study, in line with previous data [28]. Consequently, only a minority of patients could receive potentially curative therapy and more than half of the patients did not receive any therapy, a rate similar to that reported by Puoti and coworkers [9]. Thus, the mortality rate was extremely high in our cohort, with a median survival of 3 months, markedly lower than the median survival of 7 months reported in a US-Canadian study [28]. These differences probably reflect the more frequent use of curative therapy in that study.

The proposed management of HCC in HIV-infected patients is the same as that of in patients not infected with HIV. The choice of therapy is mainly driven by cancer stage, with BCLC classification [23] the most widely accepted staging system [18, 21, 24]. Our study confirms that survival increases in HIV-infected patients receiving potentially curative therapy, in agreement with preliminary data from other cohorts [28, 29]. Unfortunately, only a third of our patients had a BCLC classification of stage A at diagnosis, partly because HCC was diagnosed at screening in only a small proportion of patients. Moreover, screening-based diagnosis was only slightly more frequent in the later period compared with older cases. In our opinion, these data reflect the need for clinicians caring for persons with HIV infection to adhere to screening programs for HCC in order to achieve earlier diagnoses. Although there is no definitive evidence for the cost-effectiveness of screening for HCC in patients with HIV infection and cirrhosis, most experts recommend liver ultrasound evaluations at least every 6 months [13–15, 30, 31]. The rationale of this recommendation is that it would facilitate the diagnosis of HCC at earlier stages, thus permitting more effective therapeutic interventions. Furthermore, new approaches are reasonable, such as sequential measurements of liver stiffness by transient elastography in HIV/HCV-coinfected patients, which may allow earlier, more reliable diagnosis of cirrhosis [32] and earlier initiation of HCC surveillance measures.

Patients who have cleared HBV or HCV with therapy have a reduced risk for developing HCC that has been quantified for HCV-monoinfected individuals [33]. However, this risk reduction is not immediate and probably increases with time. Thus, guidelines of clinical practice recommend continuing to undergo surveillance in patients with cirrhosis in whom HCV is eradicated [24]. SVR has been associated with a lower incidence of liver decompensations and liver-related death in

HIV/HCV-coinfected patients in a previous retrospective study [34]. Although a statistically significant reduction in the incidence of HCC could not be proved by the investigators; there were no subsequent cases of HCC among 218 coinfected patients who achieved SVR [34]. Interestingly, there were 6 cases of HCC in patients with previous SVR in our cohort. This finding reinforces the need to continue performing ultrasound examinations in patients who respond to anti-HCV therapy to rule out late emergence of HCC.

This study has a few limitations. First, cases of HCC were mainly collected retrospectively. Thus, we cannot exclude underreporting of HCC cases in the first years of the HIV epidemic. However, HCC was an infrequent liver event in most previous reports of cohorts of HIV/HCV-coinfected patients with cirrhosis [3, 4, 6, 12], in line with our results. Moreover, the majority of recent HCC diagnoses have also been made on the basis of symptoms, not screening, which suggests that prior underreporting is improbable. Second, analyses of survival should be interpreted with caution owing to the retrospective design, because potential biases may have occurred. Conversely, our results represent one of the largest published series of HCC cases in HIV-infected patients and provide additional evidence that this entity is increasing in incidence.

In summary, HCC is an emerging complication of chronic liver disease in HIV-infected patients, especially in those who are also infected by HCV, with a dramatic increase in its incidence in recent years. Unfortunately, HCC is still frequently diagnosed at an advanced stage, and mortality continues to be very high, with no significant changes in recent years. Earlier diagnosis in time to offer potentially curative therapy continues to be the main challenge for clinicians caring for HIV-infected patients with HBV or HCV coinfection. Treatment for HCV infection should also be offered to all potential candidates, in order to achieve SVR, which may prevent the emergence of HCC.

Notes

Financial support. This work was partly supported by the Consejería de Salud de la Junta de Andalucía (reference PI-0008/2007), the Servicio Andaluz de Salud (reference SAS/111239), the Fundación Para la Investigación y la Prevención del SIDA en España (reference 36-0799-09). J. A. P. is the recipient of a research extension grant from program I3SNS of the Ministerio de Sanidad y Consumo, Instituto de Salud Carlos III, Spain. The authors also wish to thank the Ministerio de Sanidad y Consumo, Instituto de Salud Carlos III, Red de SIDA, Spain for their support (ISCIII-RETIC RD06/006). None of these grantors had any involvement in the methods of the study.

Potential conflicts of interest. All authors: No reported conflicts.

All authors have submitted the ICMJE Form for Disclosure of Potential Conflicts of Interest. Conflicts that the editors consider relevant to the content of the manuscript have been disclosed.

References

1. Antiretroviral therapy cohort collaboration. Causes of death in HIV-1-infected patients treated with antiretroviral therapy, 1996–2006:

collaborative analysis of 13 HIV cohort studies. *Clin Infect Dis* 2010; 50:1387–96.

2. Weber R, Sabin C, Friis-Møller N, et al. Liver-related deaths in persons infected with the HIV: the D:A:D study. *Arch Intern Med* 2006; 166:1632–41.
3. Pineda JA, García-García JA, Aguilar-Guisado M, et al. Clinical progression of hepatitis C virus-related chronic liver disease in human immunodeficiency virus-infected patients undergoing highly active antiretroviral therapy. *Hepatology* 2007; 46:622–30.
4. Pineda JA, Romero-Gómez M, Díaz-García F, et al. HIV coinfection shortens the survival of patients with hepatitis C virus-related decompensated cirrhosis. *Hepatology* 2005; 41:779–89.
5. Girón-González JA, Brun F, Terrón A, Vergara A, Arizcorreta A. Natural history of compensated and decompensated HCV-related cirrhosis in HIV-infected patients: a prospective multicentre study. *Antivir Ther* 2007; 12:899–907.
6. Merchante N, Girón-González JA, González-Serrano M, et al. Survival and prognostic factors of HIV-infected patients with HCV-related end-stage liver disease. *AIDS* 2006; 20:49–57.
7. García-Samaniego J, Rodríguez M, Berenguer J, et al. Hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2001; 96:179–83.
8. Davila JA, Morgan RO, Shaib Y, McGlynn KA, El Serag HB. Hepatitis C infection and the increased incidence of hepatocellular carcinoma: a population-based study. *Gastroenterology* 2004; 127:1372–80.
9. Puoti M, Bruno R, Soriano V, et al. Hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients: epidemiological features, clinical presentation and outcome. *AIDS* 2004; 18:2285–93.
10. Kramer JR, Giordano TP, Soucek J, Richardson P, Hwang LY, El Serag HB. The effect of HIV coinfection on the risk of cirrhosis and hepatocellular carcinoma in U.S. Veterans with hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2005; 100:56–63.
11. García-García JA, Romero-Gómez M, Girón-González JA, et al. Incidence of and factors associated with hepatocellular carcinoma among hepatitis C virus and human immunodeficiency virus coinfecting patients with decompensated cirrhosis. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2006; 22:1236–41.
12. Bruno R, Sacchi P, Puoti M, et al. Natural history of compensated viral cirrhosis in a cohort of patients with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 46:297–303.
13. Sulkowski M. Hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients comes of age: The convergence of epidemiology and treatment effectiveness. *J Hepatol* 2009; 50:655–8.
14. Merchante N, Jiménez-Saenz M, Pineda JA. Management of HCV-related end stage liver disease in HIV-coinfected patients. *AIDS Rev* 2007; 9:131–9.
15. Macdonald DC, Nelson M, Bower M, Powles T. Hepatocellular carcinoma, human immunodeficiency virus and viral hepatitis in the HAART era. *World J Gastroenterol* 2008; 14:1657–63.
16. Castells L, Vargas V, González A, Esteban J, Esteban R, Guardia J. Long interval between HCV infection and development of hepatocellular carcinoma. *Liver* 1995; 15:159–63.
17. Llovet JM, Burroughs A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2003; 362:1907–17.
18. El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2011; 365:1118–27.
19. Bruno R, Puoti M, Sacchi P, Filice C, Carosi G, Filice G. Management of hepatocellular carcinoma in human immunodeficiency virus-infected patients. *J Hepatol* 2006; 44(Suppl 1):146–50.
20. Salmon-Ceron D, Rosenthal E, Lewden C, et al. Emerging role of hepatocellular among liver-related causes of deaths in HIV-infected patients: The French national Mortalité 2005 study. *J Hepatol* 2009; 50:736–45.
21. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2005; 42:1208–36.
22. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1996; 334:693–9.

23. Llovet JM, Bru C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. *Semin Liver Dis* **1999**; 19: 329-38.
24. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatology* **2011**; 53:1020-2.
25. Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. SEER*Stat database: incidence-SEER 9 Regs research data, Nov 2009 Sub (1973-2007). Bethesda, MD: National Cancer Institute, **2010**.
26. Neukam K, Macías J, Mira JA, Pineda JA. A review of current anti-HCV treatment regimens and possible future strategies. *Expert Opin Pharmacother* **2009**; 10:417-33.
27. Altavilla G, Caputo A, Lanfredi M, Piola C, Barbanti-Brodano G, Corallini A. Enhancement of chemical hepatocarcinogenesis by the HIV-1 tat gene. *Am J Pathol* **2000**; 157:1081-9.
28. Brau N, Fox RK, Xiao P, et al. Presentation and outcome of hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients: a U.S.-Canadian multicenter study. *J Hepatol* **2007**; 47:527-37.
29. Garlassi E, Ventura P, Cacopardo B, et al. Hepatocellular carcinoma in HIV infected patients: check early, treat hard. *Oncologist* **2011**; 16:1258-69.
30. Joshi D, O'Grady J, Dieterich D, et al. Increasing burden of liver disease in patients with HIV infection. *Lancet* **2011**; 377:1198-209.
31. Puoti M, Rossotti R, Garlaschelli A, Bruno R. Hepatocellular carcinoma in HIV hepatitis C virus. *Curr Opin HIV AIDS* **2011**; 6:534-8.
32. Pineda JA, Aguilar-Guisado M, Rivero A, et al. Natural history of compensated liver hepatitis C virus-related cirrhosis in HIV-infected patients. *Clin Infect Dis* **2009**; 49:1274-82.
33. Bruno S, Stroffolini T, Colombo M, et al. Sustained virological response to interferon-alpha is associated with improved outcome in HCV-related cirrhosis: a retrospective study. *Hepatology* **2007**; 45:579-87.
34. Berenguer J, Alvarez-Pellicer J, Martín PM, et al. Sustained virological response to interferon plus ribavirin reduces liver-related complications and mortality in patients coinfecting with human immunodeficiency virus and hepatitis C virus. *Hepatology* **2009**; 50:407-13.



Artículo 2

N. Merchante, E. Merino, F. Rodríguez-Arredondo, C. Tural, J. Muñoz, M. Delgado-Fernández, F. Jover, MJ. Galindo, A. Rivero, J López-Aldeguer, K. Aguirrebengoa, A. Romero-Palacios, E. Martínez, J. Pineda.

HIV/Hepatitis C virus-coinfected patients who achieved sustained virological response are still at risk of developing hepatocellular carcinoma.

AIDS 2014;28(1):41-47

Resultados

Para evaluar la incidencia de CHC en pacientes coinfectados por VIH y VHC que alcanzaron una respuesta viral sostenida a VHC tras tratamiento de la hepatitis C, se amplió la cohorte a 26 hospitales de la Andalucía, País Vasco, Cataluña y Comunidad Valenciana. Durante el período del estudio, de 1999 a diciembre 2012, se diagnosticaron 182 casos de CHC, de los cuales se incluyeron los 167 (92%) que presentaban coinfección por VHC.

La infección por VHC genotipo 1 representaba el 49% de los pacientes con CHC, con VHC con genotipo 3 el 37% y el VHC genotipo 4 el 13%.

El 39% (n=65) de los pacientes con CHC habían sido tratados para hepatitis por VHC (todos con interferón-pegilado y ribavirina) previamente al diagnóstico del CHC. Sólo trece pacientes habían conseguido respuesta viral sostenida, lo que supone una tasa de RVS del 20%. Los trece pacientes con RVS representaron el 7.8% de la cohorte global.

Características de los pacientes con CHC (cohorte global)

De los 167 pacientes coinfectados VIH-VHC el 86% fueron varones, con edad media de 47 (45-51) años. El 86% refería consumo de drogas vía parenteral y el 22% consumo alcohol >50 gr/día. El 14% presentaban coinfección por VHB. La mayor parte presentaban cirrosis compensada: 54% Child-Pugh A, 28% con Child-Pugh B y el 18% Child-Pugh C. En cuanto al estadio BCLC, el 51% presentaban estadios avanzados, con la siguiente distribución: 33% estadio A, 16% estadio B, 39% estadio C y 12% estadio D. En relación a la infección por VIH, el 91% recibían TAR, con carga viral de VIH indetectable en el 77% y con una media de linfocitos CD4⁺ al debut del CHC de 312 (188-486)/mm³.

Características de los pacientes con CHC y Respuesta Viral Sostenida (RVS) para VHC

De los trece pacientes incluidos once fueron hombres con una edad media de 46 (45-49) años. Sólo un paciente presentaba otra causa asociada de CHC, consumo de alcohol. Todos los pacientes tenían diagnóstico previo de cirrosis hepática, seis pacientes en estadio Child-

Pugh A, cuatro con Child-Pugh B y tres con Child-Pugh C. De los trece pacientes con RVS, diez estaban infectados por VHC genotipo 3. La media de linfocitos CD4⁺ en estos pacientes fue de 438 (296-652) /mm³.

La media de tiempo transcurrido entre la RVS para VHC y el diagnóstico de CHC fue de 28 (20-39) meses. En siete pacientes el diagnóstico de CHC se realizó 2,5 años tras la RVS, en dos casos a los 66 meses y otro a los 71 meses post-RVS.

La información de realización de ecografías de *screening* previo al diagnóstico estaba disponible en once de los trece pacientes. En seis pacientes seguían programa de *screening* con ecografía semestral (54%). Sólo en uno de ellos, el diagnóstico se realizó en la ecografía realizada en base al programa de cribado. Destaca que en los cinco pacientes restantes, la ecografía de cribado realizada con una media 2.2 (1-4) meses previos al diagnóstico de CHC, no detectó la presencia de nódulos. En estos pacientes la realización de ecografía que permitió el diagnóstico de CHC se realizó debido a la presencia de sintomatología clínica secundaria al CHC.

En la mayor parte se realizó el diagnóstico de CHC en estadios avanzados, y ocho de ellos en estadios B o C del BCLC. Sólo dos pacientes presentaron CHC uninodular. Siete pacientes recibieron tratamiento: tres potencialmente curativo y cuatro no curativo, el resto no recibieron ningún tipo de tratamiento. El pronóstico fue malo, ocho

pacientes fallecieron en relación directa con el CHC, con una media de supervivencia de 3 (1-39) meses.

Comparación entre CHC en pacientes con y sin RVS.

En la comparación entre el grupo de pacientes con CHC con RVS respecto los que no presentaron RVS, destaca la mayor incidencia de infección por VHC con genotipo 3 en el grupo de pacientes con RVS, en relación con la mejor tasa de respuesta al tratamiento con interferón-pegilado y ribavirina de este genotipo. Aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa, los CHC diagnosticados en pacientes con RVS tenían una tendencia a presentar mayor proporción de CHC multinodular, menor cumplimiento de los criterios de Milán para trasplante hepático, y una mayor incidencia de trombosis hepática.

La mediana de supervivencia en pacientes con RVS fue menor, 3 (1-39) meses que en pacinetes sin RVS, 6 (2-20) meses, aunque sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0.7$).

Conclusiones

Los pacientes coinfectados por VIH y VHC con tratamiento y respuesta viral sostenida para VHC pueden desarrollar hepatocarcinoma en el corto-medio plazo. Por tanto, debe mantenerse el programa de detección precoz de CHC mediante ecografía semestral en pacientes coinfectados con cirrosis y respuesta viral sostenida del VHC.

HIV/hepatitis C virus-coinfected patients who achieved sustained virological response are still at risk of developing hepatocellular carcinoma

Nicolás Merchante^{a,n}, Esperanza Merino^{b,o},
Francisco Rodríguez-Arrondo^{c,p}, Cristina Tural^d, Josefa Muñoz^{e,p},
Marcial Delgado-Fernández^{f,n}, Francisco Jover^{g,o}, Maria J. Galindo^{h,o},
Antonio Rivero^{i,n}, José López-Aldeguer^{j,o}, Koldo Aguirrebengoa^{k,p},
Alberto Romero-Palacios^{l,n}, Eduardo Martínez^{m,p} and Juan A. Pineda^{a,n}

Objective: To describe the frequency and the characteristics of hepatocellular carcinoma (HCC) cases appeared in HIV/hepatitis C virus (HCV)-coinfected patients with previous sustained virological response (SVR) and to compare these cases to those diagnosed in patients without SVR.

Methods: All HIV/HCV-coinfected patients diagnosed of HCC in 26 hospitals in Spain before 31 December 2012 were analyzed. Comparisons between cases diagnosed in patients with and without previous SVR were made.

Results: One hundred sixty seven HIV/HCV-coinfected patients were diagnosed with HCC in the participant hospitals. Sixty five (39%) of them had been previously treated against HCV. In 13 cases, HCC was diagnosed after achievement consecution of SVR, accounting for 7.8% of the overall cases. The median (Q1–Q3) elapsed time from SVR to diagnosis of HCC was 28 (20–39) months. HCC was multicentric and was complicated with portal thrombosis in nine and six patients, respectively. Comparisons with HCC cases diagnosed in patients without previous SVR only yielded a significantly higher proportion of genotype 3 infection [10 (83%) out of 13 cases versus 34 (32%) out of 107; $P = 0.001$]. The median (Q1–Q3) survival of HCC was 3 (1–39) months among cases developed in patients with previous SVR, whereas it was 6 (2–20) months in the remaining individuals ($P = 0.7$).

Conclusion: HIV/HCV-coinfected patients with previous SVR may develop HCC in the mid-term and long-term. These cases account for a significant proportion of the total

^aUnidad Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología, Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS), Hospital Universitario de Valme, Sevilla, ^bUnidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital General Universitario de Alicante, Alicante, ^cUnidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Donostia, San Sebastián, Guipúzcoa, ^dHIV Clinical Unit and Fundació de la Lluita contra la Sida, Hospital Universitario Gemans Trias i Pujol, Universidad Autónoma de Barcelona, Badalona, Barcelona, ^eUnidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital de Basurto, Bilbao, Vizcaya, ^fServicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Regional Carlos Haya, Málaga, ^gUnidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Clínico Universitario de San Juan, Alicante, ^hUnidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Clínico de Valencia, Valencia, ⁱUnidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba, ^jUnidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, ^kUnidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital de Cruces, Bilbao, Vizcaya, ^lUnidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario de Puerto Real, Cádiz, ^mUnidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital de Galdakao, Vizcaya, ⁿGrupo Andaluz para el Estudio de las Hepatitis Víricas (HEPAVIR) de la Sociedad Andaluza de Enfermedades Infecciosas (SAEI), ^oSociedad Enfermedades Infecciosas de la Comunidad Valenciana (SEICV), and ^pSociedad de Enfermedades Infecciosas del Norte (SEINORTE), Spain.

Correspondence to Juan A. Pineda, Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario de Valme, Avenida de Bellavista, s/n. 41014 Sevilla, Spain.

Tel: +34 955015684/34 955015757; fax: +34 955015887; e-mail: japineda@telefonica.net

Received: 27 April 2013; revised: 10 July 2013; accepted: 11 July 2013.

DOI:10.1097/QAD.0000000000000005

cases of HCC in this setting. Our findings reinforce the need to continue surveillance of HCC with ultrasound examinations in patients with cirrhosis who respond to anti-HCV therapy.

© 2013 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

AIDS 2013, 27:000–000

Keywords: cirrhosis, hepatitis C virus, hepatocellular carcinoma, HIV, sustained virological response

Introduction

Hepatocellular carcinoma (HCC) is an emerging complication of cirrhosis in HIV-infected patients. In this sense, the Mortality Study in Francehas reported a 10-fold increase in the mortality attributable to HCC in HIV-infected individuals from 2000 to 2005 [1]. Besides, we have recently reported a progressive increase in the incidence of HCC in HIV-infected patients during the last decade in Spain [2]. Similar findings have been reported in the United States [3,4]. In HIV-infected patients, HCC is mainly linked to hepatitis coinfection. Thus, hepatitis C virus (HCV) coinfection accounted for the 93% of the cases of HCC diagnosed in HIV-infected individuals in our cohort [2] and the incidence of HCC in the HIV/HCV-coinfected population has experienced a 14-fold increase from 2000 to 2009 [2].

Eradication of HCV with antiviral therapy can reduce the risk of HCC in patients with chronic hepatitis C. Several studies have shown that the incidence of HCC is lower in HCV-infected patients who achieved sustained virological response (SVR) with interferon (IFN)-based treatment [5–9]. Additionally, a meta-analysis of 14 studies comparing 906 patients with SVR to 2402 without SVR showed that achieving SVR was associated with a risk reduction of HCC of 0.35 [10]. However, studies conducted in patients with cirrhosis have confirmed that although the incidence of HCC significantly decreases in patients who achieved SVR, the risk of HCC is not entirely eliminated in patients with cirrhosis [7–11].

There is scarce data regarding the impact of SVR on the risk of developing HCC in HIV-infected patients with chronic hepatitis C. In two previous studies [12,13] assessing the impact of SVR on the incidence of liver decompensation and liver-related death in HIV/HCV-coinfected patients, there were no subsequent cases of HCC among 254 coinfecting patients who achieved SVR. On the contrary, we have reported that cases of HCC in HIV/HCV-coinfecting patients with previous SVR may occur [2]. Besides these apparent conflicting data, little is known regarding the characteristics of patients who developed HCC in spite of eradication of HCV with therapy.

Our objective was to describe the frequency and the characteristics of HCC cases appeared in HIV/HCV-

coinfecting patients with previous SVR and to compare these cases to those diagnosed in patients without SVR.

Patients and methods

Study design, patients, and data collection

This was a retrospective cohort study that includes the cases of HCC diagnosed in HIV/HCV-coinfecting patients in 26 hospitals from Spain before 31 December 2012. Patients were included in this study provided that they met the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) 2005 criteria for the diagnosis of HCC [13]. The date of HCC diagnosis was the date when the patient first met the AASLD 2005 criteria for HCC.

HCC cases were identified from specific databases of HIV-infected patients of the participant centers and by using the database of the clinical documentation services of each institution. In addition, a systematic search of the local cancer registry for cases of HCC was performed in each hospital. Information obtained from clinical records was included in a common database, specifically created for this study. Vital status and causes of death were established from database and clinical records. Patients lost to the follow-up or their next of kin were contacted via telephone to assess their vital status.

Patient management

HCC surveillance was done according to the caring physician criteria, based on consensus recommendations in effect along the study period. AASLD 2005 practice guidelines [13] recommendations were adopted in the cohort since its publication. Therapy against HCC was categorized as curative or noncurative as established by the updated AASLD practice guidelines [15]. Finally, therapy against HCV was offered according to the physician criteria and guidelines recommendations in force during the study period [16] and followed common treatment strategies that have been described elsewhere [17]. SVR was defined as undetectable plasma HCV RNA 24 weeks after the completion of treatment.

Statistical analysis

The main characteristics of HCC cases were analyzed. For these analyses, the following variables were collected

and included: age, sex, risk factor for HIV infection, known or estimated date of HIV transmission, HCV genotype and HCV viral load, previous therapy against HCV and type of response, hepatitis B virus (HBV) surface antigen, previous alcohol consumption, CD4 cell count, previous antiretroviral therapy (ART), clinical, radiological or histological evidence of cirrhosis at the moment of HCC diagnosis and Child–Turcotte–Pugh (CTP) stage, alpha-fetoprotein level, number of liver mass lesions, diameter of the largest lesion, presence of an infiltrating mass, evidence of portal thrombosis or extrahepatic metastases, Milan criteria for liver transplantation [18], stage of HCC at diagnosis as established by the Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) staging system [19], modality of therapy against HCC given including absence of therapy and vital status.

Continuous variables are expressed as median (Q1–Q3). Categorical variables are presented as numbers [percentage; 95% confidence interval (CI)]. A comparison between the characteristics of HCC cases diagnosed in patients with and without previous SVR was made. Comparisons between continuous variables were made using the Mann–Whitney *U*-test. Comparisons between categorical variables were made by the χ^2 test or the Fisher test, when appropriate. The survival of HCC cases was also analyzed. For this analysis, the baseline time point was considered to be the date of HCC diagnosis, defined as the date when the patient first met AASLD 2005 criteria of HCC. The time-to-event was computed as the months elapsed from this time point to the date of death, loss to follow-up, or 31 December 2012. Kaplan–Meier estimates of the cumulative probability of survival were used and survival curves were compared using the log-rank test.

The statistical analysis was carried out using the SPSS 19 Statistical Software Package (SPSS; Chicago, Illinois, USA).

Ethical aspects

The study was designed and conducted following the Helsinki declaration. The Ethics committee of the Hospital Universitario de Valme approved this study.

Results

Features of the study population

One hundred and eighty two cases of HCC in HIV-infected patients were diagnosed in the participant hospitals until 31 December 2012. One hundred and sixty seven (92%) of them occurred in HIV/HCV-coinfected patients and they represent the study population. The first case of HCC was diagnosed in September 1999. The main characteristics of the population are depicted in Table 1. Sixty five (39%) patients had been treated

Table 1. Characteristics of the study population (n = 167).

Parameter	Value
Age (years) ^a	47 (45–51)
Male sex, no. (%)	143 (86)
Daily alcohol intake >50g/day, no. (%)	37 (22)
Previous intravenous drug users, no. (%)	143 (86)
Hepatitis B coinfection, no. (%)	23 (14)
Hepatitis delta coinfection, no. (%)	5 (3)
HCV genotype, no. (%) ^b	
1	59 (49)
2	1 (1)
3	44 (37)
4	15 (13)
CD4 cell count cells/ml ^{2,c}	312 (188–486)
Previous ART ^d , no. (%)	152 (91)
HIV RNA viral load <50 copies/ml, no. (%) ^e	90 (77)
Alpha-fetoprotein (ng/ml) ^{2,f}	63.9 (8.2–530.5)
Child–Turcotte–Pugh class, no. (%) ^g	
A	86 (54)
B	44 (28)
C	29 (18)
Barcelona clinic liver cancer (BCLC) stage, no. (%) ^h	
A	52 (33)
B	26 (16)
C	62 (39)
D	20 (12)

HCV, hepatitis C virus.

^aMedian (Q1–Q3).

^bAvailable in 119 patients.

^cAvailable in 154 patients.

^dART, antiretroviral therapy.

^eAvailable in 117 patients.

^fAvailable in 150 patients.

^gAvailable in 159 patients.

^hAvailable in 160 patients.

against HCV before the diagnosis of HCC. In 13 cases, HCC was diagnosed after consecution of SVR, accounting for 7.8% of the overall cases. The median (Q1–Q3) elapsed time from the end of therapy against HCV to diagnosis of HCC was 28 (20–39) months in these patients.

Characteristics of hepatocellular carcinoma cases diagnosed in patients with previous sustained virological response

Table 2 summarizes the main features of HCC cases diagnosed in patients with previous SVR. The median (Q1–Q3) age was 46 (45–49) years and 11 patients were men. Other causes of HCC, as alcohol consumption or HBV coinfection, were ruled out in all instances except for one patient who reported excessive alcohol consumption (case 1) and another patient who showed positive hepatitis B virus surface antigen (HBsAg; case 4). In all cases, there was evidence of preexisting cirrhosis. Six patients harbored CTP stage A at diagnosis of HCC, whereas four and three patients harbored stage B and C, respectively. Ten patients were infected by HCV genotype 3. The median (Q1–Q3) CD4 cell count at HCC diagnosis was 438 (296–652) cells/ml.

Diagnosis of HCC was made after a substantial period of time after the consecution of SVR in most of the cases.

Table 2. Main features of hepatocellular carcinoma diagnosed in patients with previous sustained virological response ($n = 13$).

Case	Alcohol (grs/day)	Months from end of HCV therapy	Months from last normal US	Unilocal	Milan criteria	PT	Extrahepatic disease	BCLC stage	Therapy against HCC	Vital status
1	>100	66	6	Yes	No	No	No	D	RFA	Alive
2	0	9	4	No	No	No	No	C	None	Dead
3	0–50	18	30	Yes	Yes	No	No	A	Surgical resection	Alive
4	0	21	3	Yes	Yes	No	No	A	LT	Alive
5	0–50	22	1	No	No	Yes	No	C	None	Dead
6	0	23	45	No	No	Yes	No	C	None	Dead
7	0	25	25	No	No	No	No	B	TACE	Dead
8	0	31	NA	No	No	Yes	Yes	C	None	Dead
9	0	31	15	No	No	Yes	No	B	None	Dead
10	0	36	2	No	No	Yes	No	C	Sorafenib	Alive
11	0	39	NA	No	No	No	No	B	TACE	Alive
12	0	39	1	No	No	No	Yes	C	TACE	Dead
13	0–50	71	72	Yes	No	Yes	No	C	None	Dead

BCLC, Barcelona Clinic Liver Cancer; LT, liver transplantation; NA, not available; PT, portal thrombosis; RFA, radiofrequency ablation; TACE, transarterial chemoembolization; US, ultrasound.

Namely, diagnosis was made after 2.5 years in seven patients, with two cases, 1 and 13, in whom the diagnosis of HCC was made after 66 and 71 months, respectively (Table 2). Information regarding previous abdominal ultrasound examinations was available in 11 patients. In six of them, an ultrasound examination not showing hepatic nodules was done in the 6 months before HCC diagnosis (Table 2). In the remaining patients, routine HCC surveillance was not done.

HCC cases were in an advanced stage at diagnosis in a large proportion of patients (Table 2). Seven patients received therapy against HCC: three received potentially curative therapies and four patients received noncurative therapies. HCC prognosis was poor and eight out of the 13 patients died due to HCC. The median survival time was 3 (1–39) months.

Comparisons between hepatocellular carcinoma cases diagnosed in patients with and without previous sustained virological response

Table 3 summarizes comparisons between HCC cases diagnosed in patients with and without previous SVR. There was a higher proportion of genotype 3-infected patients among HCC cases developed in patients with previous SVR when compared with those diagnosed in patients without previous SVR (Table 3). Although differences were not statistically significant, HCC cases diagnosed in previous responders tended to show a higher proportion of multilocal presentation and met Milan criteria for liver transplantation at diagnosis less frequently (Table 3). Additionally, HCC was complicated with portal thrombosis more frequently in these patients (Table 3). The median (Q1–Q3) survival of HCC was 3 (1–39) months among cases developed in patients with previous SVR, whereas it was 6 (2–20) months in the remaining individuals ($P = 0.7$; See Figure 1, supplementary material, <http://links.lww.com/QAD/A398>).

Discussion

Our study confirms that HIV/HCV-coinfected patients with previous SVR may develop HCC in the mid-term and long-term. These cases account for a significant proportion of the total cases of HCC in this population. However, there is no evident differential characteristic when compared with cases in patients without SVR. Finally, our findings reinforce the need to continue surveillance of HCC with ultrasound examinations in patients with cirrhosis who respond to anti-HCV therapy.

This study is, to our knowledge, the first to describe the frequency and characteristics of HCC developed in patients with previous SVR in the setting of HIV/HCV-coinfection. As it has been reported in the HCV-monoinfected population, HCC may occur in dually infected individuals in spite of SVR. In fact, these cases accounted for 7.8% of the total cases of HCC diagnosed in HIV/HCV-coinfected patients in our cohort. Besides, our study shows that these cases may emerge after a long period from the consecution of SVR. Thus, the majority of cases in our series appeared after 1.5 years of the end of anti-HCV therapy and the elapsed time for some cases was even longer than 5 years, as it has been also shown in HCV-monoinfected patients [20]. This finding supports the current recommendation of clinical guidelines to maintain HCC surveillance indefinitely in patients with cirrhosis who cleared HCV with therapy [15].

In our study, HCC cases that occurred among previous responders had no apparent differential characteristics when compared with the remaining population. A higher frequency of genotype 3 infection was the only statistically significant finding in these cases. In our opinion, this observation may be due to the higher probability of response to therapy of this genotype, as associations between HCV genotype and HCC risk have

Table 3. Comparisons between hepatocellular carcinoma cases diagnosed in patients with and without previous sustained virological response.

Parameter	Previous SVR (n = 13)	Non-SVR (n = 154)	P Bivariate
Age, median (Q1–Q3)	46 (45–49)	47 (45–51)	0.8
Sex			
Male	11 (85)	132 (86)	1.0
Female	2 (15)	22 (14)	
Daily alcohol intake, no. (%)			
<50grs/day	12 (92)	118 (77)	0.3
≥50grs/day	1 (8)	36 (23)	
Hepatitis B surface antigen, no. (%)			
Negative	12 (92)	133 (86)	1.0
Positive	1 (8)	21 (14)	
Hepatitis B core antibodies, no. (%) ^a			
Negative	4 (40)	52 (41)	1.0
Positive	6 (60)	74 (59)	
HCV genotype ^b			
3	10 (83)	34 (32)	0.001
non 3	2 (17)	73 (68)	
Child–Turcotte–Pugh class, no. (%) ^c			
A	6 (46)	80 (55)	0.5
B or C	7 (54)	66 (45)	
Number of nodules at diagnosis, no. (%) ^d			
Solitary	4 (31)	77 (52)	0.1
Multiple	9 (69)	72 (48)	
Portal thrombosis, no. (%)			
No	7 (54)	119 (77)	0.08
Yes	6 (46)	35 (23)	
Extrahepatic metastases, no. (%)			
No	11 (85)	135 (88)	0.7
Yes	2 (15)	19 (12)	
Milán criteria, no. (%) ^e			
No	11 (85)	92 (63)	0.1
Yes	2 (15)	55 (37)	
Barcelona Clinic Liver Cancer stage ^f			
A-B	5 (38)	73 (49)	0.4
C-D	8 (62)	74 (51)	
Therapy against HCC			
Potentially curative therapy	3 (23)	40 (26)	0.8
Noncurative therapy	4 (31)	49 (32)	
No therapy	6 (46)	65 (42)	

HCC, hepatocellular carcinoma.

^aAvailable in 36 patients.

^bAvailable in 19 patients.

^cAvailable in 59 patients.

^dAvailable in 62 patients.

^eAvailable in 61 patients.

^fAvailable in 60 patients.

been inconsistent across studies. In this sense, a meta-analysis of 21 studies found a two-fold greater risk of HCC in patients infected by genotype 1b [21], whereas a recent French study suggested an independent association of genotype 3 with HCC development [22]. Further studies should elucidate whether HCV genotype plays a role in the emergence of HCC. Finally, the possible implication of occult HBV infection in the development of HCC in previous responders was reasonably ruled out, as the frequency of positive anti-HBc was identical in both groups.

The clinical presentation of HCC cases developed in patients with previous SVR seemed to be more aggressive than that in the remaining patients. Although differences were not statistically significant, probably due to lack of power as a consequence of the small number of cases in

the SVR group, there was a trend for a higher frequency of multilobar presentation and portal thrombosis. Besides, the probability of meeting Milan criteria for liver transplantation was lower in this group. Although a worse clinical course of HCC in these patients cannot be definitely ruled out, a reasonable explanation for these findings is that HCC surveillance was discontinued in nearly half of these patients, which may lead to a late diagnosis of HCC. However, HCC therapy was given to a similar proportion of patients that in the global cohort and survival was not significantly different among groups.

Boceprevir and telaprevir, the first approved directly acting antivirals (DAAs) against HCV, significantly increase the rates of SVR among patients with HCV genotype 1 infection [23–26]. Immediate therapy for patients at high risk of liver decompensation and deferred

treatment for the rest of individuals, those who can await newer DAAs, is the strategy followed in many countries. As a consequence of this, most patients who are being treated with telaprevir or boceprevir in some cohorts of HIV/HCV-coinfected patients are those with cirrhosis [27,28]. However, treating at the stage of cirrhosis, though necessary, may be too late in terms of HCC prevention. As our study shows, eradication of HCV with therapy does not fully eliminate the risk of HCC development in HIV/HCV-coinfected patients with cirrhosis, probably due to previous long exposure to HCV before achievement of SVR. Consequently, deferring therapy with DAAs in those without cirrhosis may enhance the probability of HCC development, although SVR is achieved later in the follow-up.

This study has some limitations. First, the study was retrospectively designed. As a consequence of this, survival analyses may be interpreted cautiously. This may also raise the question of whether cases of HCC among previous responders may correspond to failures of ultrasound screening to detect small HCC at the beginning of therapy, rather than a late emergence of HCC. However, the length of the elapsed time between therapy and HCC diagnosis suggests that preexisting ultrasound detectable nodules at the start of therapy are unlikely. Second, although other potential causes of HCC in these patients were reasonably ruled out, under-reporting of alcohol consumption may be a concern. It is well known that heavy alcohol ingestion has a synergistic effect with HCV in the development of cirrhosis and HCC [29]. Thus, a heavier alcohol intake than reported cannot be excluded. Finally, the power of the study is insufficient to prove some associations. In any case, this is the first study that has documented the frequency of HCC among previous responders in the setting of HIV/HCV-coinfection and represents the largest published cohort of HCC cases in this population. These are the strengths of our study, which make relevant the results.

In summary, HIV/HCV-coinfected patients with previous SVR may develop HCC in the mid-term. Due to this, surveillance of HCC with ultrasound examinations should be maintained in HIV/HCV-coinfected patients with cirrhosis who respond to anti-HCV therapy.

Acknowledgements

The authors thank the following persons for their contribution to the study: Juan Macías (Hospital de Valme, Sevilla), Francisco Téllez (Hospital de La Línea, La Línea de la Concepción, Cádiz), Manuel Márquez-Solero (Hospital Virgen de la Victoria, Málaga), María José Ríos-Villegas (Hospital Virgen Macarena, Sevilla), Enrique Ortega (Hospital General de Valencia), Carlos

Mínguez (Hospital General de Castellón), Sergio Padilla (Hospital General de Elche, Alicante), Concepción Amador (Hospital Marina Baja, Villajoyosa, Alicante), Joaquín Portilla (Hospital General Universitario de Alicante), Joan Gregori (Hospital de Orihuela), Miguel Ángel Von Wichmann, José Antonio Iribarren, Xabier Camino and Miguel Ángel Goneaga (Hospital de Donostia, Guipúzcoa), Oscar Ferrero and Sofía Ibarra (Hospital de Basurto, Vizcaya), Josune Goikoetxea (Hospital de Cruces, Bilbao, Vizcaya), María Asunción García Gonzalo (Hospital de Galdakao, Vizcaya), Joseba Portu (Hospital de Txagorritxu, Vitoria, Álava), Luis Metola (Hospital de San Pedro, Logroño), Rafael Silvariño (Hospital de San Eloy, Baracaldo, Vizcaya), Boris Revollo, Bonaventura Clotet, and Antoni Jou (Hospital German Trias i Pujol, Badalona, Barcelona).

Conflicts of interest

This work was partly supported by the Red de Investigación en SIDA (ISCIII-RETIC RD06/006 and ISCIII-RETIC RD12/0017) and the Servicio Andaluz de Salud (Reference SAS/111239). J.A.P. is the recipient of an intensification grant from the Instituto de Salud Carlos III (grant reference Programa-I3SNS).

There are no conflicts of interest.

References

1. Salmon-Ceron D, Rosenthal E, Lewden C, Bouteloup V, May T, Bury C, et al. **Emerging role of hepatocellular among liver-related causes of deaths in HIV-infected patients: the French National Mortality 2005 study.** *J Hepatol* 2009; 50:736–745.
2. Merchante N, Merino E, López-Aldeguer J, Jover F, Delgado-Fernández M, Galindo MJ, et al. **Increasing incidence of hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients in Spain.** *Clin Infect Dis* 2013; 56:143–150.
3. Sahasrabudhem VV, Shiels MS, McGlynn KA, Engels EA. **The risk of hepatocellular carcinoma among individuals with acquired immunodeficiency syndrome in the United States.** *Cancer* 2012; 118:6226–6233.
4. Ioannou GN, Bryson CL, Weiss NS, Miller R, Scott JD, Boyko EJ. **The prevalence of cirrhosis and hepatocellular carcinoma in patients with HIV infection.** *Hepatology* 2013; 57:249–257.
5. Yu ML, Lin SM, Chuang WL, Dai CY, Wuang JH, Lu SN, et al. **A sustained virological response to interferon or interferon/ribavirin reduces hepatocellular carcinoma and improves survival in chronic hepatitis C: a nationwide, multicentre study in Taiwan.** *Antivir Ther* 2006; 11:985–994.
6. Shiratori Y, Ito Y, Yokosuka O, Imazeki F, Nakata R, Tanaka N, et al. **Antiviral therapy for cirrhotic hepatitis C: association with reduced hepatocellular carcinoma development and improved survival.** *Ann Intern Med* 2005; 142:105–114.
7. Morgan TR, Ghany MG, Kim HY, Snow KK, Shiffman ML, de Santo JL, et al. **Outcome of sustained virological responders with histologically advanced chronic hepatitis C.** *Hepatology* 2010; 52:833–844.
8. Okanoue T, Itoh Y, Minami M, Sakamoto S, Yasui K, Sakamoto M, et al. **Interferon therapy lowers the rate of progression to hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C but not significantly in an advanced stage: a retrospective study in 1148 patients.** *Viral Hepatitis Therapy Study Group. J Hepatol* 1999; 30:653–659.

9. Braks RE, Ganne-Carrie N, Fontaine H, Paries J, Grando-Lemaire V, Beaugrand M, et al. **Effect of sustained virological response on long-term clinical outcome in 113 patients with compensated hepatitis C-related cirrhosis treated by interferon alfa and ribavirin.** *World J Gastroenterol* 2007; **13**:5648–5653.
10. Singal AK, Singh A, Jaganmohan S, Guturu P, Mummadi R, Kuo YF, et al. **Antiviral therapy reduces risk of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus-related cirrhosis.** *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; **8**:192–199.
11. Bruno S, Stroffolini T, Colombo M, Bolani S, Benvegnù L, Mazzella G, et al. **Sustained virological response to interferon-alpha is associated with improved outcome in HCV-related cirrhosis: a retrospective study.** *Hepatology* 2007; **45**:579–587.
12. Berenguer J, Alvarez-Pellicer J, Martín PM, López-Aldeguer J, von-Wichmann MA, Quereda C, et al. **Sustained virological response to interferon plus ribavirin reduces liver-related complications and mortality in patients coinfecting with human immunodeficiency virus and hepatitis C virus.** *Hepatology* 2009; **50**:407–413.
13. Limketkai BN, Mehta SH, Sutcliffe CG, Higgins YM, Torbenson MS, Brinkley SC, et al. **Relationship of liver disease stage and antiviral therapy with liver-related events and death in adults coinfecting with HIV/HCV.** *JAMA* 2012; **308**:370–378.
14. Bruix J, Sherman M. **Management of hepatocellular carcinoma.** *Hepatology* 2005; **42**:1208–1236.
15. Bruix J, Sherman M. **Management of hepatocellular carcinoma: an update.** *Hepatology* 2011; **53**:1020–1022.
16. Soriano V, Puoti M, Sulkowski M, Cargnel A, Benhamou Y, Peters M, et al. **Care of patients coinfecting with HIV and hepatitis C virus: 2007 updated recommendations from the HCV-HIV international panel.** *AIDS* 2007; **21**:1073–1089.
17. Pineda JA, Caruz A, Rivero A, Neukam K, Salas I, Camacho A, et al. **Prediction of response to pegylated interferon plus ribavirin by IL28B gene variation in patients coinfecting with HIV and hepatitis C virus.** *Clin Infect Dis* 2010; **51**:788–795.
18. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, et al. **Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis.** *N Engl J Med* 1996; **334**:693–699.
19. Llovet JM, Bru C, Bruix J. **Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification.** *Semin Liver Dis* 1999; **19**:329–338.
20. Van der Meer AJ, Veldt BJ, Feld JJ, Wedemeyer H, Dufour JF, Lammert F, et al. **Association between sustained virological response and all-cause mortality among patients with chronic hepatitis C and advanced hepatic fibrosis.** *JAMA* 2012; **308**:2584–2593.
21. Raimondi S, Bruno S, Mondelli MU, Maisonneuve P. **Hepatitis C virus genotype 1b as a risk factor for hepatocellular carcinoma development: a meta-analysis.** *J Hepatol* 2009; **50**:1142–1154.
22. Nkontchou G, Zioli M, Aout M, Lhabadie M, Baazia Y, Mahmoudi A, et al. **HCV genotype 3 is associated with a higher hepatocellular carcinoma incidence in patients with ongoing viral C cirrhosis.** *J Viral Hepat* 2011; **18**:e516–e522.
23. Poordad F, McCone J, Bacon BR, Bruno S, Manns MP, Sulkowski MS, et al. **Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection.** *N Engl J Med* 2011; **364**:1195–1206.
24. Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, Di Bisceglie AM, Reddy KR, Bzowej NH, et al. **Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection.** *N Engl J Med* 2011; **364**:2405–2416.
25. Sulkowski MS, Sherman KE, Soriano V, Rockstroh J, Dieterich DT, Girard PM, et al. **Telaprevir in combination with peginterferon alfa-2a/ribavirin in HCV/HIV co-infected patients: SVR24 final study results.** *Program and abstracts of the 63rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases*; 9–13 November 2012; Boston, Massachusetts, USA. Abstract 54.
26. Sulkowski M, Pol S, Cooper C, Fainboim H, Slim J, Rivero A, et al. **Boceprevir plus pegylated interferon/ribavirin for the treatment of HCV/HIV co-infected patients.** *19th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*; 5–8 March 2011; Seattle, Washington, USA. Abstract 47.
27. Hezode C, Dorival C, Zoulim F, Larrey D, Pol S, Cacoub P, et al. **Safety and efficacy of telaprevir or boceprevir in combination with peginterferon alfa/ribavirin, in 497 cirrhotic non responders. Week 16 analysis of the French early access program (ANRS CO20-CUPIC) in real-life setting.** *63rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases*. Boston, MA; 9–12 November 2012.
28. Mira JA, Camacho A, López Cortés LF, Márquez M, Cifuentes C, Rivero-Juárez A, et al. **Rapid virological response in HIV/HCV-coinfecting patients with genotype 1 receiving telaprevir or boceprevir outside clinical trials: results from HEPAVIR-THERAPY cohort.** *48th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver*; 24–28 April 2013; Amsterdam, The Netherlands. Abstract 1860.
29. Donato F, Tagger A, Gelatti U, Parrinello G, Boffetta P, Albertini A, et al. **Alcohol and hepatocellular carcinoma: the effect of lifetime intake and hepatitis virus infection in men and women.** *Am J Epidemiol* 2002; **155**:323–331.

Uncited reference

[14].





DISCUSIÓN



Discusión

Artículo 1: Aumento de incidencia de carcinoma hepatocelular en pacientes con infección por VIH en España.

En el primer estudio, que analiza todos los casos de hepatocarcinoma en 18 centros hospitalarios de España, se objetiva un incremento en la incidencia de hepatocarcinoma en pacientes con infección por VIH durante los últimos años del período del estudio. En nuestra cohorte se diagnosticaron sólo 16 casos entre 1999 y diciembre de 2004, frente a 66 nuevos diagnósticos en el período 2005-10, con un aumento de densidad de incidencia desde 0,2 a 2,8 por 1.000 personas-año a lo largo de la década. El diagnóstico de CHC se asoció a la presencia de hepatopatía crónica por VHC, con un aumento en la incidencia de CHC de hasta 14 veces en la población coinfectada por VIH-VHC desde el año 2000 al 2010 .

Este aumento progresivo en la incidencia de CHC también ha sido también observado en población general, aunque en menor magnitud. En Estados Unidos la incidencia de CHC relacionado con la infección por VHC se ha triplicado en las dos últimas décadas⁹⁴.

Otros estudios confirman nuestros resultados en población coinfectada por VIH y VHC. El estudio francés *Mortavic*⁷⁴, alertó sobre el CHC como una causa emergente de muerte de causa hepática en pacientes coinfectados VIH-VHC en el período 2000-2005, respecto al 1995-2000.

Este incremento fue progresivo, alcanzando en su serie más reciente (período 2005-2010, publicado en 2014) el 50% de los casos de muerte por causa hepática en población coinfectada⁹⁵.

Los estudios previos^{67,68,76} que analizan la incidencia de CHC en pacientes con infección por VIH detectaron una variación entre 0-1,3 por 1000 personas año. Sin embargo, estos estudios se caracterizaron por incluir un escaso número de pacientes diagnosticados de CHC en las tres series: seis casos de una cohorte⁷⁶ de 2383 pacientes entre 1986-2001, diez entre 4761 pacientes⁶⁷ con seguimiento entre 1991-2000 y cuatro en 1037 pacientes⁶⁸. En 2011, Bruyand⁷⁷ analizó la incidencia de CHC en la cohorte *Aquitania* que incluía 2864 pacientes con infección por VIH en seguimiento entre 1998-2008, con 16 casos de pacientes con CHC lo que supuso una incidencia global de CHC durante el período de estudio de 0,78 por 1.000 personas-año.

En el mismo año que publicamos nuestra cohorte, se publica⁷⁵ en Estados Unidos los datos de dos registros de cáncer que incluyen una cohorte de pacientes con infección por VIH (*US HIV/AIDS Cancer Matches Study, ACMS*) y una cohorte de población general. En este estudio, se incluyeron 615.150 pacientes con infección por VIH o sida diagnosticados entre 1980-2009, de los cuales 366 pacientes presentaron CHC, con una incidencia cuatro veces mayor que en población general. En este registro, también se evidencia un aumento progresivo en la incidencia de CHC en los últimos años con la siguiente

distribución de todos los CHC : 0,1% en la era previa al inicio del tratamiento antirretroviral (1980-89), 3,8% en la etapa de monoterapia o terapia dual con inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos (1990-95), 25,7% en la etapa inicial del tratamiento antirretroviral de alta eficacia (1996-2000) y el 70,5% en la etapa moderna del TAR (2001-2009). La incidencia fue 2,7 veces mayor en los años 2001-2009 que en los períodos previos, lo que es concordante con nuestros datos.

Posteriormente en 2013, un estudio de la cohorte de Veteranos⁹⁶ (*USA, Veterans Affairs Health Care System*) con 24.040 pacientes con infección por VIH en seguimiento desde 1996 a 2009, reportó un incremento en la incidencia de CHC del 0,04% al 0.5% a lo largo de los 13 años de seguimiento. El incremento fue más pronunciado en pacientes con infección por VIH respecto a población general no infectada por VIH.

En 2014, Montes et al.⁹⁷ publicaron un estudio prospectivo realizado en España, de una cohorte de pacientes con infección por VIH y cirrosis hepática con un seguimiento desde 2004 a 2009 (N=371). Durante el período de estudio, se diagnosticaron diez pacientes con CHC, estimando una incidencia de 6,7 por 1.000 pacientes-año, con aumento progresivo a lo largo de los años, con una de las incidencias más elevadas publicadas en la literatura. Es importante resaltar que esta incidencia se determina en una población de pacientes con

infección por VIH y cirrosis hepática, a diferencia del resto de estudios que incluyen el global de pacientes con infección por VIH (con / sin hepatopatía asociada).

Este aumento en incidencia de CHC en los últimos años puede ser debido a múltiples factores, como han sugerido diferentes autores. En primer lugar, el TAR aumenta la supervivencia en pacientes con infección por VIH y hepatopatía, lo que permite el desarrollo de complicaciones tardías propias de la enfermedad hepática terminal, como la cirrosis hepática y el CHC. En segundo lugar, la tasa de coinfección por VHC en pacientes con infección por VIH es elevada, en función del factor de riesgo de adquisición del VIH, alcanzando el 60-70% en personas que adquirieron el VIH por consumo de drogas por vía parenteral. En tercer lugar, en esta población es frecuente la asociación con otros factores de riesgo relacionados con el desarrollo de CHC, como el consumo de alcohol, que en nuestra cohorte alcanza el 40% o la coinfección por VHB que puede oscilar entre el 7% (nuestra cohorte) y el 20% en países asiáticos. En cuarto lugar, hasta la llegada de los nuevos tratamientos de la hepatitis C con fármacos antivirales de acción directa, la eficacia del tratamiento con interferón pegilado más ribavirina en paciente coinfectado ha sido menor que en los pacientes mono infectados, con tasas de respuesta viral que oscilaban entre el 35-45%, lo que aumenta el riesgo de desarrollo de CHC. Por último, el mejor manejo clínico del paciente coinfectado con cirrosis hepática, permite la prevención y optimización del tratamiento de las

descompensaciones lo que prolonga la supervivencia y por tanto, la probabilidad de desarrollo de CHC.

En nuestra cohorte la infección crónica por VHC fue la causa más frecuente de hepatopatía crónica y CHC. En la segunda cohorte (1999-2012) en la que se incluyeron 182 casos de CHC, el 92% (165) de los pacientes presentaban coinfección por VHC. Aunque esta incidencia puede variar en función de la población estudiada, vía de adquisición de la infección por VIH y área geográfica, en la mayor parte de los estudios realizados en USA y Europa occidental, el VHC es el principal agente etiológico identificado. En estudios realizados en Italia⁹⁸ el VHC aparece en el 60-70% de los casos de CHC y en Estados Unidos⁷⁵ hasta el 40-55% en función de diferentes poblaciones.

Sólo en la serie de Montes et al⁹⁷, en el que se incluyen de forma prospectiva todos los pacientes con infección por VIH y cirrosis hepática atendidos en nueve centros hospitalarios (95% con coinfección por VHC), no encuentran diferencias de incidencia entre pacientes con VHC, VHB o coinfección por ambos virus, pero dado que se diagnosticaron sólo diez casos (dos en pacientes sin infección por VHC), los datos obtenidos no reflejan bien la etiología relacionada con el CHC.

La relación entre el VHC y la infección por VIH ha sido explorada desde el inicio de la pandemia. El propio virus VIH produce una influencia

negativa sobre la infección por VHC fundamentalmente a tres niveles: (1) aumenta la probabilidad de desarrollo de infección crónica tras un episodio de infección aguda, (2) acelera el desarrollo a cirrosis hepática en los pacientes con hepatitis C crónica, y (3) hasta la llegada de los antivirales de acción directa frente al VHC, la coinfección disminuía la probabilidad de respuesta viral sostenida al tratamiento basado en interferón-pegilado más ribavirina.

Estas evidencias han sido confirmadas en diferentes publicaciones, y recogidas en un meta-análisis¹⁰⁰, publicado en 2009, en el que la infección por VIH se asociaba con un RR: 1,47 (1,27- 1,70) de desarrollo de cirrosis, un RR 5,45 (2,54 – 11,71) de enfermedad hepática descompensada y un RR 3.60 (3,12 - 4,15) de mortalidad de causa hepática comparado con pacientes monoinfectados por VHC.

En cambio, dada la menor incidencia de CHC en cohortes previas, el papel de la infección por VIH en el desarrollo de CHC en pacientes con hepatopatía crónica por VHC es controvertido. Los estudios retrospectivos realizados previos al año 2002-2003, describen mayor incidencia de CHC en pacientes monoinfectados, principalmente en relación con la menor supervivencia de los pacientes infectados por VIH. En 2006 un amplio estudio retrospectivo¹⁰¹ que compara la incidencia de CHC entre 14.018 pacientes infectados con VIH frente a 28.036 pacientes sin infección por VIH pareados por edad, sexo, infección VHC y consumo de alcohol, no demostró diferencias entre

ambos grupos. Los autores concluyeron que la coinfección por VIH no suponía un riesgo adicional sobre la infección por VHC para el desarrollo de CHC. Posteriormente en 2009, otro meta-análisis¹⁰¹ tampoco identificó diferencias entre pacientes coinfectados o mono infectados por VHC para el desarrollo de CHC.

Un estudio prospectivo¹⁰², realizado en pacientes con cirrosis hepática por VHC que incluyó pacientes mono infectados por VHC y coinfectados por VIH-VHC en seguimiento durante 11 años, la incidencia de CHC en ambos grupos fue similar: 1,54 vs 3,03 casos por 100-personas-año respectivamente (log rank $p=0.3225$). La limitación fundamental de este estudio es el pequeño número de pacientes incluidos en la cohorte: 148 pacientes con cirrosis hepática (69 mono y 79 coinfectados) con desarrollo de CHC en sólo doce pacientes.

Un estudio¹⁰³ publicado en 2015, realizado en la cohorte de Veteranos (USA, *Veterans Affairs Health Care System*), que incluye el mayor número de pacientes con infección por VIH y CHC ($n=234$), encontró una incidencia cruda de 5,47 (5,33-5,62) y 4,7 (4,13- 5,34) casos de CHC por 1.000 personas-año en la cohorte de mono infectados por VHC y coinfectados por VIH-VHC respectivamente. La incidencia ajustada por edad, fue más alta en pacientes coinfectados: 4,44 (3,31-5,56) casos por 1.000 personas-año respecto a pacientes mono infectados: 2,99 (2,98-2,99).

Por tanto, aunque se dispone de datos claros que apoyan la mayor progresión de la hepatopatía por VHC a cirrosis y enfermedad hepática terminal en pacientes coinfectados respecto a mono infectados por VHC, los datos disponibles respecto al CHC son controvertidos. Sin embargo, resulta razonable pensar que si la enfermedad hepática terminal se desarrolla de forma más rápida en la coinfección, también debe influir en el desarrollo de CHC. Esto explicaría porqué en todas las series publicadas la edad media de aparición del CHC es entre 15-20 años menor en pacientes coinfectados (47 años en nuestra serie) respecto a otros estudios publicados en población mono infectada.

En nuestra cohorte, la mayor parte de los CHC no afectaban a pacientes con inmunodepresión grave. Aproximadamente el 64% presentaban un recuento de linfocitos $CD4^+ > 200/mm^3$ y el 80% recibían TAR con carga viral indetectable de VIH en el 75% de los casos.

Aunque en los primeros estudios se describió que el CHC aparecía en pacientes con mayor inmunosupresión, no se detectó una asociación estadísticamente significativa, probablemente por la mayor mortalidad por otras causas (principalmente relacionada con el sida) en el grupo de pacientes con inmunodepresión severa, que limitaban el tiempo necesario para el desarrollo de CHC. En cambio, en series más recientes¹⁰³ la incidencia de CHC no se asocia con datos clínicos inmunosupresión, como el nadir de linfocitos $CD4^+$ o el control virológico del VIH (expresado en tiempo de indetectabilidad de la carga

viral de VIH), aunque si se asocia a recuentos más bajos de linfocitos CD4 + en el momento del diagnóstico de CHC, lo cual puede estar más relacionado con la leucopenia presente en los pacientes con cirrosis. Ese es un dato diferencial respecto a otros tumores asociados a infección viral en el contexto de los tumores-no sida, como el carcinoma anal o el linfoma, los cuales se asocian a mayor inmunodepresión y peor control virológico expresados como el nadir de linfocitos CD4⁺ o el tiempo de detectabilidad de carga viral de VIH.

Una de las principales características del CHC en los pacientes con infección por VIH es su diagnóstico en personas más jóvenes respecto a lo observado en población no VIH. En nuestra serie el 66% presentaban menos de 50 años, con una edad media de 47 (45-51) años^{80,90,103}, muy similar al resto de series publicadas que oscilan entre 46-50 años e inferior a la media de 60 años para pacientes sin infección por VIH.

En los pacientes de nuestra serie destaca la elevada frecuencia de síntomas al diagnóstico y la detección en estadios avanzados, con presencia >1 nódulo o difuso en más del 60%, trombosis portal en el 30% y metástasis a distancia en 16%, lo que condiciona estadios avanzados del BCLC (estadios C y D en el 47% para la primera cohorte, y 51% para la segunda) que limitan las opciones terapéuticas. En general, estos datos son congruentes con los observados en otros estudios publicados^{80,82,90,103} en los que existe un elevado número de pacientes con diagnóstico en estadio avanzado, con nódulo único

detectado en el 30-40% en la mayor parte de las series publicadas. Se ha sugerido como principal causa la baja inclusión de estos pacientes en programas de cribado de CHC, en la mayor parte de las series sólo un tercio de los pacientes diagnosticados de CHC estaban en programa de cribado (similar a nuestra cohorte). Aunque no hay datos concluyentes en pacientes con infección por VIH y cirrosis hepática, la mayoría de los expertos^{104,105,106,107} recomiendan un *screening* de CHC en pacientes cirróticos mediante ecografía semestral. En esta línea, un estudio canadiense¹⁰⁸ publicado en 2013, alerta sobre la baja realización del seguimiento de los programas de cribado en los pacientes con infección por VIH, en los que sólo se realizaba una ecografía semestral en el 36% de los pacientes con cirrosis hepática.

Dos estudios recientes señalan que el diagnóstico tardío también podría estar en relación con mayor agresividad del tumor, ya que analizan pacientes sometidos a programas de cribado según los estándares de referencia. El problema de ambos estudios es que incluyeron un bajo número de CHC. El primero⁸⁰ de los estudios incluye dos cohortes prospectivas francesas (*ANRS CI13 Hepavir* y *CO12 Cirvir*), con realización de ecografía semestral, en 1081 pacientes cirróticos no-VIH y 1175 coinfectados por VIH-VHC. Se diagnosticaron 16 pacientes con CHC en cada grupo, con grandes diferencias en su presentación. El 57% de los CHC de los pacientes coinfectados fueron multinodulares frente al 25% en pacientes sin infección por VIH, con nódulos de mayor tamaño (24 mm frente a 16 mm) y mayor incidencia de trombosis portal. En la segunda cohorte⁹⁷, que incluyó 371 pacientes con realización de ecografía semestral (tiempo medio de ecografía anterior

normal: 6,98 meses), se diagnosticaron diez casos de CHC, seis casos de ellos con afectación multinodular y trombosis portal en el 50%.

Las recomendaciones de tratamiento para CHC en pacientes con infección por VIH son iguales que para población general y se basan en la estratificación mediante la clasificación BCLC. Desafortunadamente, sólo un tercio de nuestros pacientes fueron diagnosticados en estadio A del BCLC, lo que permitía un tratamiento potencialmente curativo en una minoría de los mismos (13% en la cohorte global: 6% *versus* 15% en el primer y segundo período respectivamente). Más de la mitad (60%) de los pacientes no recibieron ningún tipo de tratamiento por su avanzada enfermedad. Nuestro estudio nos permite confirmar el aumento de supervivencia en pacientes coinfectados por VIH-VHC que reciben tratamiento potencialmente curativo del CHC respecto al resto de tratamientos (no potencialmente curativo/no tratamiento) de forma similar a lo observado en pacientes mono infectados. Nuestros resultados respecto a la supervivencia del CHC en relación con un diagnóstico precoz y la instauración de un tratamiento potencialmente curativo en pacientes coinfectados han sido también reportados por otros autores^{78,109}.

La supervivencia media referida en la literatura^{78,79,80,82,98} oscila entre 6-35 meses, con una gran variabilidad en función del estadio de CHC en el momento del diagnóstico y la administración o no de tratamiento potencialmente curativo. En nuestra serie, la supervivencia media fue

de 3 meses, inferior a la referida en otros estudios, reflejando la menor administración de tratamientos potencialmente curativos (13%) que alcanza el 20-25% en el resto de estudios. En la ampliación de nuestra cohorte hasta el año 2012, este porcentaje aumentó hasta el 26%. Es de destacar, que de los pacientes que recibieron un tratamiento potencialmente curativo, el 80% presentaron una supervivencia superior a 12 meses, fundamentalmente a expensas de pacientes que recibieron trasplante hepático, cuya realización se inició en 2010.

A lo largo de la década estudiada en el primer artículo (hasta 2010) no observamos diferencias en las características clínicas al debut del CHC, con similar incidencia de estadios avanzados y del diagnóstico en programas de *screening*, lo que se ha traducido en una probabilidad de supervivencia similar a lo largo de los años de seguimiento de la cohorte. Como se ha comentado previamente, en la cohorte actualizada a 2012 la supervivencia media aumentó hasta 21 meses, en relación probablemente a la administración de tratamiento curativo en el 26% de los pacientes respecto al 13% de la primera cohorte.

Artículo 2: Los pacientes con coinfección por VIH/VHC que alcanzan respuesta viral sostenida están todavía en riesgo de desarrollo de carcinoma hepatocelular.

Nuestro estudio confirma que los pacientes coinfectados por VIH/VHC con respuesta viral sostenida a VHC pueden desarrollar CHC a medio y largo plazo, siendo la primera serie publicada que describe la frecuencia y características del CHC en pacientes con RVS tras tratamiento de la hepatitis C en el seno de la coinfección VIH-VHC. En nuestra cohorte, con la inclusión de 167 pacientes con CHC coinfectados por VIH-VHC, el 7,8% habían conseguido RVS previamente.

Desde el inicio del tratamiento de la hepatitis VHC con interferón o interferón pegilado más ribavirina, se demostró que los pacientes mono infectados por VHC que conseguían RVS presentaban un menor riesgo de desarrollo de CHC. Múltiples estudios apoyan estos datos, con dos amplios meta-análisis recientes^{110,111}. En el primero¹¹⁰ de ellos, se incluyen 30 estudios observacionales que demuestran como la RVS reduce el riesgo de CHC, con menor incidencia en el grupo de pacientes con RVS (N= 9.185) del 1,5% frente al 6,2% en pacientes sin RVS (N= 16.312), con una reducción del RR 0.24 (0.18-0.31). En el segundo meta-análisis¹¹¹, que analiza 34 estudios, cuantifica el RR entre 0,09-0,35 en pacientes a RVS respecto no respondedores o no tratados. Esta reducción del riesgo se objetiva también en la prevención de la recurrencia tras hepatectomía por CHC con un aumento de la supervivencia¹¹².

A pesar de que la RVS reduce el riesgo de desarrollo de CHC, este riesgo no se elimina por completo. Estudios en pacientes mono infectados han comunicado casos de pacientes con RVS y CHC tras el tratamiento que desarrollan CHC. En el meta-análisis de Morgan al ¹¹⁰, con 25.497 pacientes con CHC incluidos, 145 presentaban RVS previa, lo que supuso una incidencia del 0,6%. En cambio en otras series, como la de Pinzone ¹¹³, la incidencia de pacientes con RVS de toda la cohorte de CHC fue del 5,8% (13/221), más cercana al 7.8% identificado en nuestra serie.

Se han propuesto dos posibles modelos de desarrollo de CHC tras alcanzar la RVS con el tratamiento de la hepatitis C ¹¹⁴. En un primer modelo, el CHC se desarrollaría después de la erradicación del VHC como consecuencia de un potencial de hepatocarcinogénesis residual que persistiría tras la RVS, con persistencia de aumento del ciclo celular del hepatocito que podría favorecer el desarrollo de poblaciones monoclonales. Por otra parte, el aumento de la regeneración hepática, que ocurre tras el tratamiento antiviral, puede activar diferentes vías metabólicas que aumenta el riesgo de carcinogénesis ¹¹⁵. En estos casos, se ha postulado que la elevación de AFP (como marcador de regeneración hepática) post-tratamiento puede ser un marcador que identifique pacientes con mayor riesgo de desarrollo de CHC.

El otro modelo, se basa en la existencia de lesiones no detectadas durante la administración de tratamiento frente al VHC que por su mínimo tamaño no son diagnosticadas previamente. En los estudios publicados, la mayor parte de los pacientes con RVS desarrollan CHC en los tres primeros años tras la erradicación del VHC. Estos resultados son similares a los observados en nuestro estudio, con una media de 28 meses (Q1: 20m , Q3: 39m) desde la obtención de la RVS hasta el diagnóstico de CHC. Estos resultados podrían sugerir que el CHC estaría presente antes de la RVS con un tamaño no detectable por las técnicas habituales de diagnóstico, aunque cerca de un 20-30% de los CHC se diagnostican tras más de cinco años post-RVS.

En nuestra serie, las características basales de los pacientes con coinfección VIH-VHC y CHC no difieren entre los pacientes que habían alcanzado o no RVS. La distribución por edad y sexo fue similar entre ambos grupos. En cambio, en la serie de Pinzone¹¹³ que realizó un seguimiento a lo largo de diez años de 221 pacientes mono infectados y con RVS, trece (5,8%) desarrollaron CHC, hubo un predominio de varones y de mayor edad en el grupo con RVS previa. Como en el resto de estudios sobre CHC en pacientes con infección por VIH (con o sin RVS), la edad media en nuestra serie fue mucho menor que en pacientes mono infectados.

La asociación entre infección por VHC genotipo 3 y el desarrollo de CHC tras alcanzar RVS fue estadísticamente significativa. Ese resultado

estaría en relación con la mayor probabilidad de alcanzar RVS con interferón-pegilado más ribavirina en pacientes infectados por VHC con genotipo 3. No hemos encontrado asociación entre este genotipo y el CHC en los datos obtenidos en la literatura científica y sólo otro estudio¹¹⁶ encontró una posible asociación entre el VHC genotipo 3 y el desarrollo de CHC. En un meta-análisis¹¹⁷ que incluyó de 21 estudios, los autores demostraron que los pacientes infectados por VHC genotipo 1b presentaban el doble del riesgo de desarrollo de CHC respecto al resto de los genotipos. Posiblemente son necesarios más estudios para aclarar la implicación del genotipo del VHC, más allá del 1b, en el desarrollo del hepatocarcinoma.

Dado que el alcohol y la infección por VHB pueden influenciar el desarrollo de CHC, ambas variables fueron analizadas en nuestro estudio. De los trece pacientes con RVS y CHC, en cuatro casos se detectó consumo de alcohol (en un caso >100 gr/día), aunque la incidencia fue similar que en los pacientes sin RVS. La posible implicación de infección oculta por VHB fue excluida razonablemente dado que la frecuencia de anti-HBc fue idéntica en ambos grupos.

Es importante destacar que aunque cerca del 70% de los CHC en los diferentes estudios^{106,113} se diagnostican en los tres primeros años tras la RVS, tanto en nuestra serie como en otras, se describe cerca de un 20% de casos entre los 5-10 años post-tratamiento e incluso un caso diagnóstico tras más de diez años de erradicación del VHC^{118,119}. En otro estudio¹²⁰ este diagnóstico pasados cinco de CHC tras RVS ocurrió hasta en el 25% de los casos. En este escenario de bajo riesgo, pero

persistente de desarrollo de CHC, es importante identificar aquellos factores de riesgo asociados que permitan definir la mejor estrategia de prevención y cribado de CHC.

Nuestro estudio no permite identificar los factores de riesgo asociados al desarrollo de CHC tras RVS. Morgan et¹¹⁰ al identificaron tres factores en paciente mono infectados: edad, ser varón y grados avanzados de fibrosis hepática, con un riesgo de CHC de siete, dos y tres veces mayor en función de la edad > 50 años, fibrosis avanzada (fibrosis hepática \geq F3) y del sexo masculino respectivamente.

La principal característica de nuestros pacientes que desarrollan CHC tras la RVS en nuestros pacientes, es que todos ellos presentaban un diagnóstico de cirrosis hepática previo al desarrollo de CHC, hallazgo consistente con los datos publicados en la literatura en pacientes mono infectados^{113,121,122}.

La presencia de cirrosis hepática constituye el principal factor de riesgo en todas las series publicadas, aunque también se han descrito casos de CHC en pacientes sin cirrosis previa pero con fibrosis hepática grado 3. Algunos estudios sugieren que niveles basales elevados de GGT se correlacionan con el desarrollo posterior de CHC en pacientes con RVS¹²³. En un estudio reciente que incluyó 562 pacientes con RVS y un seguimiento medio de 5 años, se registró una incidencia acumulada de CHC del 3,5%, 14,7% y 17,2% a los 5, 10, 15 años post-tratamiento para

pacientes con fibrosis hepática superior o igual a grado 2. Las variables identificadas como factores de riesgo fueron: ser varón, edad, consumo de alcohol, diabetes y los niveles AFP elevados previos al tratamiento con interferón¹²⁰. Este estudio plantea como grupo de alto riesgo de CHC tras la erradicación del VHC aquellos pacientes con edad > 50 años, ser varón y la fibrosis hepática ≥ 2 .

Se han sugerido como factores de riesgo adicionales niveles elevados de ALT, esteatosis alcohólica, diabetes, obesidad y la presencia de infección oculta por VHB¹²⁴. También se han implicado factores genéticos, como la presencia del alelo menor de la IL28B (genotipo TT, CT) que se ha asociado con menor edad de diagnóstico del CHC, de forma independiente a la respuesta al tratamiento y la progresión de la fibrosis hepática¹²⁵.

La progresión de la fibrosis hepática tras RVS parece ser un factor fundamental en el desarrollo del CHC, como demuestra un estudio¹²⁶ con biopsias secuenciales de 97 pacientes con RVS (5,8 +/- 1,9 años post-RVS). En esta serie el riesgo de CHC es mucho mayor en aquellos pacientes con progresión de la fibrosis hepática (12% de la serie) respecto al grupo de pacientes con fibrosis estable (48%) o con regresión de la misma (45%) tras la RVS.

No existen datos en la literatura que identifiquen los factores de riesgo de CHC en pacientes coinfectados por VIH-VHC con RVS tras el

tratamiento de la hepatitis C. Probablemente estos factores de riesgo son comunes a los pacientes monoinfectados, aunque desconocemos si la incidencia o el tiempo de progresión puede ser diferente. La serie más amplia que analiza los factores de riesgo de CHC en pacientes infectados por VIH (con/sin RVS), encuentra una asociación con la inmunodepresión grave (linfocitos $CD4^+ < 200/mm^3$), pero a diferencia de otros tumores relacionados con virus (carcinoma anal, o linfoma no Hodgkin), la supresión de la carga viral de VIH, así como el tiempo de indetectabilidad no parecen correlacionar con el desarrollo de CHC¹⁰³.

La mejor caracterización de los factores de riesgo relacionados con el desarrollo de CHC en pacientes con RVS es fundamental para la identificación de grupos de alto riesgo y recomendación de estrategias de *screening* del CHC.

En nuestra serie, la presentación clínica del CHC parece ser más agresiva que en pacientes sin RVS. Se objetivó una mayor tendencia no significativa estadísticamente, probablemente por el bajo número de casos de pacientes con RVS, a la presentación del CHC como multinodular y con trombosis portal asociada en pacientes con RVS previa. Así mismo, la probabilidad de cumplimiento de los criterios de Milán fue más baja en este grupo. Aunque una posible explicación para estos resultados es la ausencia de realización de un programa de cribado de CHC en la mitad de los pacientes, destaca que cinco de los 11 pacientes con datos disponibles, disponían de ecografía previa al

diagnóstico sin presencia de nódulos: en un paciente, cuatro meses previo al diagnóstico y en cuatro de ellos, en los tres meses anteriores. Independientemente de la variabilidad de la técnica, estos datos podrían sugerir una mayor rapidez en el desarrollo de CHC en estos pacientes. Por tanto, la frecuencia semestral de realización de ecografía para pacientes mono infectados por VHC podría no ser adecuada para pacientes coinfectados VIH-VHC. El tipo de tratamiento administrado así como la supervivencia fue similar entre ambos grupos.

En cambio, en la serie de Pinzonet al ¹⁰⁶ que analizan las características clínicas del CHC en pacientes mono infectados con RVS, en doce pacientes de un total de trece, el CHC fue diagnosticado como nódulo único (media 2,5 cm +/-0,5 cm) con tratamiento curativo en todos ellos (once resección quirúrgica, uno trasplante hepático), sin determinar si el diagnóstico se realizó durante un programa de *screening*.

Los datos obtenidos en nuestra serie, así como los publicados en la literatura respecto a los pacientes mono infectados, refuerzan la necesidad de continuar programas con ecografía rutinaria en pacientes con fibrosis hepática avanzada (F3,F4) independientemente de la respuesta previa al tratamiento de VHC. Existen factores por definir como el seguimiento para pacientes con fibrosis menos avanzada (F2), o la duración de estos programas. El análisis e identificación de factores de riesgo adicionales, permitirá establecer subgrupos con mayor riesgo y por tanto, estratificar los pacientes en función del riesgo de desarrollo

de CHC, para mejor inclusión en programas de *screening*, dado que el diagnóstico durante programas de cribado se relaciona con mejor supervivencia¹¹⁹.

La recomendación que se plantea, es continuar el seguimiento ecográfico de forma semestral y probablemente, de forma indefinida. Necesitamos más estudios que permitan identificar si la infección por VIH se comporta como un factor de riesgo adicional para el desarrollo de CHC, dado que nuestra serie sugiere una incidencia algo mayor de RVS en pacientes con CHC que en pacientes monoinfectados y con menor tiempo medio de ecografía hepática previa sin lesiones, y por tanto, es importante analizar si estos pacientes serían susceptibles de diferentes programas de cribado del CHC.

Más allá del diagnóstico precoz, el objetivo debe ser reducir la incidencia de nuevos casos de CHC, bien en el área de la prevención de nuevas infecciones, principalmente por VHB o VHC, o en la prevención del desarrollo de fibrosis avanzada en pacientes con infección por VHC, puesto que la RVS en pacientes con menor grado de fibrosis hepática (F0-F1), si que supone una reducción máxima del riesgo de desarrollo de CHC. Aunque el tratamiento de VHC en fases avanzadas de la infección por VHC, mejora el pronóstico de los pacientes en términos de mortalidad de causa hepática, descompensación de la cirrosis o desarrollo de CHC, el tratamiento en fases previas con antivirales de acción directa podría eliminar casi por completo el riesgo de desarrollo

de CHC, puesto que los pacientes que desarrollan CHC tras RVS presentan (en nuestro estudio como los publicados en la literatura) fibrosis avanzada (fundamentalmente F4).

La importancia de nuestro estudio , es que se trata de una de las series multicéntricas más amplias publicadas de CHC en pacientes con infección por VIH, en la que se analiza la evolución de la incidencia y de las características clínicas a lo largo de 13 años en función del período de estudio. Por otra parte, esta cohorte nos ha permitido detectar un relevante número de pacientes con CHC y RVS, constituyendo la primera serie en pacientes con infección VIH, y analizar sus características clínicas.

Esta cohorte permanece activa con actualizaciones semestrales que nos permiten analizar e identificar nuevos aspectos clínicos del CHC en los pacientes infectados por VIH.



CONCLUSIONES



Conclusiones

1. La incidencia de hepatocarcinoma en pacientes con infección por VIH ha aumentado progresivamente a lo largo del período de estudio 1999-2010.

2. La infección por VHC es el principal agente etiológico relacionado con el desarrollo de hepatocarcinoma en pacientes con infección por VIH.

3. El hepatocarcinoma en los pacientes con infección por VIH se diagnostica en estadios muy avanzados, lo que limita la posibilidad de administración de tratamiento potencialmente curativo.

4. La frecuencia de diagnóstico del hepatocarcinoma en estadios avanzados permanece estable a lo largo del período de estudio.

5. La administración de tratamiento potencialmente curativo se asocia con mejor pronóstico en términos de supervivencia.

6. Los pacientes coinfectados por VIH y VHC que han recibido tratamiento y alcanzado respuesta viral sostenida para VHC pueden desarrollar hepatocarcinoma en un corto-medio plazo de tiempo.

8. Las características clínicas del hepatocarcinoma en pacientes coinfectados por VHC-VIH con respuesta viral sostenida para el VHC no difieren de los pacientes sin respuesta al tratamiento de la infección por VHC.

9. Debe continuarse con los programas de cribado de hepatocarcinoma, con una ecografía semestral, en aquellos pacientes con infección por VIH que consiguieron una respuesta viral sostenida al tratamiento del VHC y que presenta fibrosis hepática avanzada (≥ 3).





BIBLIOGRAFÍA

Hepatocarcinoma en infección VIH



Bibliografía

1. 1993 reviewed classification for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. MMWR Recomm Rep 1992 Dec18;41 (RR-17): 1-19.
2. Antiretroviral therapy cohort collaboration. Causes of death in HIV-1-infected patients treated with antiretroviral therapy, 1996–2006: collaborative analysis of 13 HIV cohort studies. Clin Infect Dis 2010;50:1387-96.
3. Herida M, Mary-Krause M, Capan R, Cadranel J, Pozot-Martin I, Rabaul C et al. Incidence of non-AIDS-defining cancers before and during the highly active antiretroviral therapy era in a cohort of human immunodeficiency virus-infected patients. J Clin Oncol 2003;21:3447-3453.
4. Shiels MS, Cole SR, Kirk GD, Poole Ch. A meta-analysis of the incidence of non-AIDS cancers in HIV-infected individuals. J Acquir Immune Defic Syndr 2009; 52: 611-622.
5. Patel P, Hanson DL, Sullivan PS, Novak RM, Moorman AC, Tong TC, et al. Incidence of types of cancer among HIV-infected persons compared with the general population in the United States 1992-2003. Ann Intern Med 2008; 148: 728-736.
6. Marin B, Thiébaud R, Bucher HC, Rondeau V, Costagliola D, Dorrucchi M, et al. Non-AIDS-defining deaths and immunodeficiency

- in the era of combination antiretroviral therapy. *AIDS* 2009; 23: 1743-1753.
7. Bonnet F, Burty C, Lewden C, Costagliola D, May T, Bouteloup V et al. Changes in cancer mortality among HIV-infected patients: the Mortalité 2005 Survey. *Clin Infect Dis* 2009; 48: 633-636.
 8. Masiá M, Padilla S, Álvarez D, López JC, Santos I, Soriano V, et al. Risk, predictors, and mortality associated with non-AIDS events in newly diagnosed HIV-infected patients: role of antiretroviral therapy. *AIDS* 2013; 27: 181-189.
 9. Lima VD, Hogg RS, Harrigan PR et al. Continued improvement in survival among HIV-infected individuals with newer forms of highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2007;21:685-692.
 10. Hogg RS, Heath KV, Yip B et al. Improved survival among HIV-infected individuals following initiation of antiretroviral therapy. *JAMA* 1998;279:450-454.
 11. Palella FR Jr, Delaney KM, Moorman Ac. Et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med* 1998;338:853-60.
 12. Torres M, González C, Del Romero J, Viciano P, Ocampo A, Rodríguez- Fortúnez P, et al. Anal HPV genotype distribution in HIV-infected men who have sex with men by geographical origin, age and cytological status in a Spanish cohort (CoRIS-HPV). *J Clin Microbiol* 2013; 51:3512-20.

13. Soriano V, Martin-Carbonero L, Vispo E, Labarga P, Barreiro P. Human immunodeficiency virus infection and viral hepatitis. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2011; 29: 691-701.
14. Masiá M, Pérez-Cachafeiro S, Leyes M, López-Aldeguer J, López M, Segura F, et al. Cardiovascular risk in human immunodeficiency virus-infected patients in Spain. CoRIS cohort, 2011. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2012; 30: 517-527.
15. Galvan FH, Bing EG, Fleishman JA, London AS, Caetano R, Bumama MA, et al. The prevalence of alcohol consumption and heavy drinking among people with HIV in the United States: results from the HIV Costland Services Utilization Study. *J Stud Alcohol* 2002; 63: 179-186.
16. Cremer KJ, Spring SB, Gruber J. Role of human immunodeficiency virus type 1 and other viruses in malignancies associated with acquired immunodeficiency disease syndrome. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 1016–1024.
17. Kieff E. Current perspectives on the molecular pathogenesis of virus-induced cancers in human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome. *J Natl Cancer Inst Monogr* 1998; 23: 7-14.
18. Ensoli B, Barillari G, Salahuddin SZ, Gallo RC, Wong-Staal F. Tat protein of HIV-1 stimulates growth of cells derived from Kaposi's sarcoma lesions of AIDS patients. *Nature* 1990; 345: 84-86.

19. Albini A, Barillari G, Benelli R, Gallo RC, Ensoli B. Angiogenic properties of human immunodeficiency virus type 1 Tat protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 4838–4842.
20. Crum-Cianflone, Hullsiek KH, Maraconi V, Ganesan A, Barthel V, Fraser S, Agan BK, Wegner S. Trends in the incidence of cancers among HIV-infected persons and the impact of antiretroviral therapy. A 20-year cohort study. *AIDS* 2009;23(1):41-50.
21. Ben Ari Z, Weitzman E, Safran M. Oncogenic viruses and hepatocellular carcinoma. *Clin Liver Dis* 2015;19:341-360.
22. Jang Z, Jhunjhunwala S, Liu J et al. The effects of hepatitis B virus integration into the genomes of hepatocellular carcinoma patients. *Genome Res* 2012;22(4):593-601.
23. Sung WK, Zheng H, Li S et al. Genome-wide survey of recurrent HBV integration in hepatocellular carcinoma. *Nat Genet* 2012;44(7):765-69.
24. Feitelson MA, Reis HM, Tufan NL et al. Putative roles of hepatitis Bx antigen in the pathogenesis of chronic liver diseases. *Cancer Lett* 2009;286(1):69-79.
25. Lemon SM, McGivern DR. Is hepatitis C virus carcinogenic? *Gastroenterology* 2012;142:1274-1278.

26. Zemel R, Gerechet S, Greit H et al. Cell transformation induced by hepatitis C virus NS₅ serine protease. *J Viral Hepat* 2001;8(2):96-102.
27. El-Refaie A, Savage K, Bhattacharya S. Et al. HCV-associated hepatocellular carcinoma without cirrhosis. *J Hepatol* 1996;24(3):277-285.
28. Yeh MM, Daniel HD, Torbenson MM. Hepatitis C-associated hepatocellular carcinomas in non-cirrhotic livers. *Mod Pathol* 2010;23(2):276-283.
29. Lok AS, Seefl LB, Morgan TR et al. Incidence of hepatocellular carcinoma and associated risk factors in hepatitis C-related advanced liver disease. *Gastroenterology* 200;136:138-48.
30. Lee MH, Yang HI, Lu SN et al. Hepatitis C virus seromarkers and subsequent risk of hepatocellular carcinoma: long-term predictors from a community-based cohort study. *J Clin Oncol* 2010;28(30):4587-93.
31. M. Pagan-Simon, S Serafinska, J Janocha-Litwin, K Simon, J Zuwala-Jagiello. Diagnostic challenges in Primary Hepatocellular Carcinoma: case reports and review of the literature. Hindawi Publishing Corporation 2015.
32. De Martel C, Ferlay J, Franceschi S, et al. Global burden of cancers attributable to infection sin 2008: a review and synthetic analysis. *Lancet Oncol* 2012;13(6)607-15.

33. El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology* 2007;132:2557-2576.
34. Venook AP, Papandreou C, Furuse J et al. The incidence and epidemiology of hepatocellular carcinoma: a global and regional perspective. *Oncologist* 2010;15:S5-13.
35. Govaere O, Roskams T. Pathogenesis and prognosis of hepatocellular carcinoma at the cellular and molecular levels. *Clin Liver Dis* 2015;19:261-276.
36. Yu NC, Chaudhari V, Raman SS, Lassman C, Tong MJ, Busuttil RW, Lu DS. CT and MRI improve detection of hepatocellular carcinoma, compared with ultrasound alone in patients with cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011;9:161-167.
37. Bremner KE, Bayoumi AM, Sherman M, Krhan MD. Management of solitary 1cm to 2 cm liver nodules in patients with compensated cirrhosis: a decision analysis. *Can J Gastroenterol* 2007;21:491-500.
38. Watanabe A, Armijo M, AlObeidi M, Kim HJ, Velloni FG, Semelka C, Bolondi L, Greten TF, Galle PR, Seitz JF, Borbath I, Haussinger D, Giannaris T, Shan M, Moscovici M, Voliotis D, Bruix J. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2008;359:378-390.
39. Farinati F, Marino D, De G et al. Diagnostic and prognostic role of alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma: both or neither?. *Am J Gastroenterol* 2006;101:524-32.

40. Simpson HN, McGuire BM. Screening and Detection of hepatocellular carcinoma. Clin Liver Dis 2015;19:295-307.
41. Llovet JM, Brú C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. Semin Liver Dis 1999;19:329-338.
42. Cabibbo G, Enea M, Atanasio M, Bruix J, Craxi A, Cammá C. A meta-analysis of survival rates of untreated patients in randomized clinical trials of hepatocellular carcinoma. Hepatology 2010; 51:1274-1283.
43. Bolondi L, Greten TF, Galle PR, Seitz JF, Borbath I, Haussinger D, Giannaris T, Shan M, Moscovici M, Voliotis d, Bruix J. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. N Engl J Med 2008;359:378-390.
44. Kinoshita A, Onoda Hiroshi, Fusilla N, Koike K, Nishino H, Tajiri H. Staging systems for hepatocellular carcinoma: Current status and future perspectives. World J Hepatol 2015;7(3):406-424.
45. European association for the study of the liver. European Organization for research and treatment of cancer. EASL-EORT clinical practice guidelines management of hepatocellular carcinoma J Hepatol 2012;56:908-943.
46. Bruix J, Sherman M, Management of hepatocellular carcinoma: an update. Hepatology 2011;53:1020-1022.

47. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, Montalto F, Ammantuna M, Morabito A, Gennari L. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1996;334:693.
48. Figueras J, Jaurrieta E, Valls C, Benasco C, Rafecas A, Xiol X, Fabregat JK, Casanova T, Torras J, Baliellas C, Ibañez L, Moreno P, Casis L. Survival after liver transplantation in cirrhotic patients with and without hepatocellular carcinoma: a comparative study. *Hepatology* 1997;25:1485-1489.
49. Seinstra BA, Van Delden Om, Van Erpecum KJ, Van Hillegersbert R, Mali WP, Van den Bosch MA. Minimally invasive image-guided therapy for inoperable hepatocellular carcinoma. What is the evidence today?. *Insights Imaging* 2010;1:167-181.
50. Genco C, Cabibbo G, Maida M, Brancatelli G, Galia M, Alessi N, Butera G, Genova C, rmano P, Raineri m, Giarratano A, Midiri M, Cammá C. Treatment of hepatocellular carcinoma: present and futures. *Expert Rev Anticancer Ther* 2013;13:469-479.
51. Tejeda-Maldonado J, García-Juárez J, Aguirre-Valadez J, González-Aguirre, Villatobá-Chapa M, Armengol-Alonso A, Escobar-Penagos F, Torre A, Sánchez-Avila JF, Carrillo-Pérez D. Diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma: an uptdate. *World J Hepatol* 2015;27(3): 362-376.
52. Deng GA, Zeng S, Shen H. Chemotherapy and target therapy for hepatocellular carcinoma: New advances and challenges. *World J Hepatol* 2015;7(5):787-798.

53. Sasaki Y, Yamada T, Tanaka H, Oigáis H, Eguchi H, Yano M, Ishikawa O, Imaoka S. Risk of recurrence in a long-term follow-up after surgery in 417 patients with hepatitis B or hepatitis C-related hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 2006;244:771-780.
54. Zhang BH, Yang BH, Tang ZY. Randomized controlled trial of screening for hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004;130:417-22.
55. Santi V, Trevisani F, Gramenzi A, Grignaschi A, Mirici-Cappa f, del Poggio P, Di Golfo MA, venvegnú L, farinati F, Zoli M., Gianini Eg, Borzio F, Caturelli E, Chiaramonte M, Bernadi M. *J Hepatol* 2010;53(2):291-7.
56. Trinchet JC, Chaffaut C, Bourcier V, Degos F, Henrion J, Fontaine H et al. Groupe d'Etude et de Traitement du carcinome hépatocellulaires (GRETCH). Ultrasonographic surveillance of hepatocellular carcinoma in cirrhosis : a randomized trial comparing 3 and 6- months periodicities. *Hepatology* 2011; 54:1987-1997.
57. Ogawa E, Furusyo N, Kajiwara E, Takahashi K, Nomura H, Maruyama T et al. Kyushu University Liver Disease Study Group. Efficacy of pegylated interferon and ribavirin treatment on the risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C: a prospective, multicenter study. *J Hepatol* 2013;58:495-201.
58. Lok ASF, McMahon B. Chronic hepatitis B: Update 2009. *Hepatology* 2009;50:527-37.

59. Hosaka T, Suzuki F, Kobayashi M, Seko Y, Kawamura Y, Sezaki H et al. Long-term entecavir treatment reduces hepatocellular carcinoma incidence in patients with hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2013;58:98-107.
60. Larsen C, Pialoux G, Salmon D, Antona D, Le Strat Y, Piroth L et al. Prevalence of hepatitis C and hepatitis B infection in the HIV-infected population of France, 2004. *Euro Surveill* 2008,13:18888.
61. Lemoine M, Ingiliz P. Liver injury in HIV monoinfected patients: should we turn blind eye to it? *Clin Res Hepatogastroenterol* 2012;36:441-47.
62. Pineda JA, Romero-Gómez M, Díaz-García F, et al. HIV coinfection shortens the survival of patients with hepatitis C virus-related decompensated cirrhosis. *Hepatology* 2005;41:779-89.
63. Girón-González JA, Brun F, Terrón A, Vergara A, Arizcorreta A. Natural history of compensated and decompensated HCV-related cirrhosis in HIV-infected patients: a prospective multicentre study. *Antivir Ther* 2007;12:899-907.
64. Merchante N, Girón-González JA, González-Serrano M, et al. Survival and prognostic factors of HIV-infected patients with HCV-related end-stage liver disease. *AIDS* 2006;20:49-57.
65. López-Dieguez M, Montes ML, Pascual-Pareja JF et al. The natural history of liver cirrhosis in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients. *AIDS* 2011;25:899-904.

66. Weber R, Sabin C, Fris-Moller N, et al. Liver-related deaths in persons infected with the HIV: the D:A:D study. *Arch Intern Med* 2006;166:1632-41.
67. Kramer JR, Giordano TP, Soucek J, Richardson P, Hwang LY, El Serag HB. The effect of HIV coinfection on the risk of cirrhosis and hepatocellular carcinoma in U.S. Veterans with hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2005;100:56-63.
68. García-García JA, Romero-Gómez M, Girón-González JA, et al. Incidence of and factors associated with hepatocellular carcinoma among hepatitis C virus and human immunodeficiency virus coinfecting patients with decompensated cirrhosis. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2006;22:1236-41.
69. Bruno R, Sacchi P, Puoti M, et al. Natural history of compensated viral cirrhosis in a cohort of patients with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;46:297-303.
70. Sulkowski M. Hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients comes of age: The convergence of epidemiology and treatment effectiveness. *J Hepatol* 2009;50:655-8.
71. Macdonald DC, Nelson M, Bower M, Powles T. Hepatocellular carcinoma, human immunodeficiency virus and viral hepatitis in the HAART era. *World J Gastroenterol* 2008;14:1657-63.
72. Castells L, Vargas V, González A, Esteban J, Esteban R, Guardia J. Long interval between HCV infection and development of hepatocellular carcinoma. *Liver* 1995;15:159-63.

73. El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2011; 365:1118-27.
74. Salmon-Ceron D, Rosenthal E, Lewden C, et al. Emerging role of hepatocellular among liver-related causes of deaths in HIV-infected patients: The French national Mortalité 2005 study. *J Hepatol* 2009;50:736-45.
75. Saharabuddhe VV, Shiels MS, McGlynn KA, Engels EA. The risk of hepatocellular carcinoma among individuals with acquired immunodeficiency syndrome in the United States. *Cancer* 2012; 118 (24)6226-6233.
76. Murillas J, Del Río M, Riera M et al. Increased incidence of hepatocellular carcinoma (HCC) in HIV infected patients. *Eur J Intern Med* 2005;16:113-115.
77. Bruyand M, Dabis F Vandenhende MA et al. HIV-induced immune deficiency is associated with a higher risk of hepatocarcinoma. *ANRS CO3 Aquitaine Cohort, France 1998-2008. J Hepatol* 2011;55:1058-63.
78. Bräu N, Fox RK, Xiao P, Mrks K, Naqvi Z, Taylo rLE et al. Presentation and outcome of hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients: A US-Canadian multicenter study. *J Hepatol* 2007;47:527-537.
79. Puoti M, Bruno R, Soriano V, Donato F, Gaeta GB, Quinzan GP et al. Hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients: epidemiological

- features, clinical presentation and outcome. *AIDS* 2004;18:2285-2293.
80. Bourcier V, Winnock M, Ait Ahmed M, Sogni P, Pambrun E, Pozot-Martin I, Chaffaut C, Chevert S, Trinchet JC, Samon D. ANRS CO13 Hepavir study group, ANRS CO12 cirvir study group. *Clin Res Hepatogastroenterol* 2012 Jun;36(3):212-21.
81. Lim C, Goutte N, Gervais A, Vullierme M-P, Valla DC, Degos F et al. Standardized care management ensures similar survival rates in HIV-positive and HIV-negative patients with hepatocellular carcinoma. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2012;61:581-587.
82. Berretta M, Garlassi E, Cacopardo B, Cappellani A, Guaraldi G, Gocchi S et al. Hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients. Check early, treat hard. *Oncologist* 2011;16:1258-1269.
83. Yu ML, Lin SM, Chuang WL, Dai CY, Wuang JH, Lu SN, et al. A sustained virological response to interferon or interferon/ribavirin reduces hepatocellular carcinoma and improves survival in chronic hepatitis C: a nationwide, multicentre study in Taiwan. *Antivir Ther* 2006; 11:985–994.
84. Shiratori Y, Ito Y, Yokosuka O, Imazeki F, Nakata R, Tanaka N, et al. Antiviral therapy for cirrhotic hepatitis C: association with reduced hepatocellular carcinoma development and improved survival. *Ann Intern Med* 2005; 142:105–114.
85. Morgan TR, Ghany MG, Kim HY, Snow KK, Shiffman ML, de Santo JL, et al. Outcome of sustained virological responders with

- histologically advanced chronic hepatitis C. *Hepatology* 2010; 52:833–844.
86. Okanoue T, Itoh Y, Minami M, Sakamoto S, Yasui K, Sakamoto M, et al. Interferon therapy lowers the rate of progression to hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C but not significantly in an advanced stage: a retrospective study in 1148 patients. Viral Hepatitis Therapy Study Group. *J Hepatol* 1999; 30:653–659.
87. Braks RE, Ganne-Carrie N, Fontaine H, Paries J, Grando-Lemaire V, Beaugrand M, et al. Effect of sustained virological response on long-term clinical outcome in 113 patients with compensated hepatitis C-related cirrhosis treated by interferon alfa and ribavirin. *World J Gastroenterol* 2007; 13:5648–5653.
88. Singal AK, Singh A, Jaganmohan S, Guturu P, Mummadi R, Kuo YF, et al. Antiviral therapy reduces risk of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus-related cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8:192–19.
89. Bruno S, Stroffolini T, Colombo M, Bolani S, Benvegnù L, Mazzella G, et al. Sustained virological response to interferon-alpha is associated with improved outcome in HCV-related cirrhosis: a retrospective study. *Hepatology* 2007; 45:579–587.
90. Sheu JC, Sung JL, Chen DS, Yang PM, Lai MY, Lee CS, Hsu HC, Chuang CN, Yang PC, Wang TH. Growth rate of asymptomatic hepatocellular carcinoma and its clinical implications. *Gastroenterology* 1985;89:259-66.

91. Berenguer J, Alvarez-Pellicer J, Martín PM, López-Aldeguer J, von-Wichmann MA, Quereda C, et al. Sustained virological response to interferon plus ribavirin reduces liver-related complications and mortality in patients coinfecting with human immunodeficiency virus and hepatitis C virus. *Hepatology* 2009; 50:407–413.
92. Limketkai BN, Mehta SH, Sutcliffe CG, Higgins YM, Torbenson MS, Brinkley SC, et al. Relationship of liver disease stage and antiviral therapy with liver-related events and death in adults coinfecting with HIV/HCV. *JAMA* 2012; 308:370–378.
93. Bruix J, Sherman M. Practice Guidelines Committee of the AASLD. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2005; 42:1208–1236.
94. Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. SEER*Stat database: incidence—SEER 9 Register research data, Nov 2009 Sub (1973–2007). Bethesda, MD: National Cancer Institute; 2010.
95. Rosenthal E, Roussillon C, Salmon-Ceron D, Georget A, Hénard S, Huleux T, Gueit I, Mortier E, Costagliola D, Morlat P, Chêne G, Cacoub P and the Mortalité 2010 and GERMIVIC study groups. Liver-related deaths in HIV-infected patients between 1995 and 2010 in France: the Mortavic 2010 study in collaboration with the *Agence Nationales de Recherche sur le SIDA (ANRS)* Mortalité 2010 survey. *HIV Medicine* 2014; 1-10
96. Ioannou GN, Bryson CL, Weiss NS, Miller R, Scott JD, Boulko EJ. The prevalence of cirrhosis and hepatocellular carcinoma in patients

- with human immunodeficiency virus infection. *Hepatology* 2013;57:249-257.
97. Montes ML, Miró JM, Quereda C, Jou A, Von Wichman MA, Berenguer J, González-García JJ, Hernando A, Ortega E, Sanz J, Arribas JR. Incidence of hepatocellular carcinoma in HIV-Infected patients with cirrosis: A prospective study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2014;65:82-86.
98. Gramenzi A, Tedeschi S, Cantarini MC, Erroi V, Tumiento F, Atard L, Calza L, Foschi G, Caraceni P, Pavoni M, Cuchetti A, Bernardi M, Viale P, Verucchi G, Trevisani F. *Digestive and Liver Disease* 2013;45:516-22.
99. Patel P, Hanson DL, Sullivan PS, Novak RM, Moorman AC, Tong TC et al. Incidence of types of cancer among HIV-infected persons compared with the general population of in the United States, 1992-2003. *Ann Intern Med* 2008;148:728-36.
100. Deng LP, Gui XE, Zhang YX, Gao SC, Yag RR. Impact of HIV infection on the course of hepatitis C infection: a meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2009;15:996-1003.
101. McGinnis KA, Fultz SL, Skanderson M, Conigliaro J, Bryant K, Jusice AC, Hepatocellular carcinoma and non-Hodkgin's lymphoma: the roles of HIV, hepatitis C infection and alcohol abuse. *J Clin Oncol* 2006;24:5005-9.
102. Di Benedetto N, Peralta M, Alvarez E, Shcroder MT, Estepo C, Paz S, Fainboim H. Incidence of hepatocellular carcinoma in hepatitis C

- cirrhotic patients with and without HIV infection: a cohort study, 1999-2011. *Ann Hepatol* 2014;13:38-44.
103. Kramer JR, Kowalkowski MA, Duan Z, Chiao EY. The effect of HIV viral control on the incidence of hepatocellular carcinoma in Veterans with hepatitis C and HIV coinfection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2015,68(4):456-462
104. Sulkowski M. Hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients comes of age: The convergence of epidemiology and treatment effectiveness. *J Hepatol* 2009;50:655-8.
105. Macdonald DC, Nelson M, Bower M, Powles T. Hepatocellular carcinoma, human immunodeficiency virus and viral hepatitis in the HAART era. *World J Gastroenterol* 2008;14:1657-63.
106. Joshi D, O'Grady J, Dieterich D, et al. Increasing burden of liver disease in patients with HIV infection. *Lancet* 2011;377:1198-209.
107. Puoti M, Rossotti R, Garlaschelli A, Bruno R. Hepatocellular carcinoma in HIV hepatitis C virus. *Curr Opin HIV AIDS* 2011;6:534-538.
108. Beauchamp E, Rollet K, Walmsley S, Wong DK, Cooper C, Klein MB for the Canadian co-infection cohort study. *Clin Infect Dis* 2013;57:1339-1342.

109. Garlassi E, Ventura P, Cacopardo B, et al. Hepatocellular carcinoma in HIV infected patients: check early, treat hard. *Oncologist* 2011;16:1258-69.
110. Morgan R, Baack B, Smith BD, Yartel A, Pitasi M, Falck-Ytter Y. Erradication of hepatitis C virus infection and the development of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis of observational studies. *Ann Intern Med* 2013;158:329-337.
111. Smith-Palmer J, Cerri K, Valentine W. Achieving sustained virological response in hepatitis C: a systematic review of the clinical, economic and quality of life benefits. *BMC Infect Dis* 2015;15:1-19.
112. Tsujita E, Maeda T, Kayashima H, Harada N, Tsutsui S, Matsuda H, Kinjo N, Ikeda y, Morita M, Ishida T. Effect of sustained virological response to interferon therapy for hepatitis C to the hepatectomy for primary hepatocellular carcinoma. *Hepato-gastroenterology* 2015;62:157-63.
113. Pinzone MR, Zanghi AM, Rapisarda L, Dägata V, Bennati F, Spartá D, Nunnari G, Cacopardo B. Cirrhotic patients are still at risk of developing hepatocellular carcinoma despite interferon-induced sustained virological response. *Eur Rev Med Phamacol Sci* 2014;18(Suppl2):11-15.
114. Sheu JC, Sung JL, ChenDS, Yang PM, Lai MY, Lee Cs, Hsu HC, Chuang CN, Yang PC, Wang TH. Growth rate of asymptomatic hepatocellular carcinoma and its clinical implications. *Gastroenterology* 1985;89:259-66.

115. Thorgeirsson SS, Grisham JW. Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. *Nat Genet* 2002;31:339-46.
116. Nkontchou G, Ziol M, Aout M, Lhabadie M, Baazia Y, Mahmoudi A. HCV genotype 3 is associated with a higher hepatocellular carcinoma incidence in patients with ongoing viral C cirrhosis. *J Viral Hepat* 2011;18:e516-e522.
117. Raimondi S, Bruno S, Mondelli MU, Maisonneuve P. Hepatitis C virus genotype 1b as a risk factor for hepatocellular carcinoma development: a meta-analysis. *J Hepatol* 2009;50:1142-54.
118. Albines GS, Mesa A, Fuentes-Martínez N, Pérez R, Fernández-Molina J, Rodríguez M, Varela m. Occurrence of hepatocellular carcinoma upon advanced liver fibrosis thirteen years after achieving sustained virological response to hepatitis C: how long surveillance should be maintained?. *Dig Dis Sci* 2015;60(2):582-85.
119. Mashitani T, Yoshiji H, Uyamazaki M et al. Development of hepatocellular carcinoma in a patient 13 years after sustained virological response to interferon against chronic hepatitis C: a case report. *Cases J* 2009;2:18.
120. Yamashita N, Ohho A, Yamasaki a, Kurokawa m, Kotoh K, Kajiwara E. Hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis C patients achieving a sustained virological response to interferon: significance of lifelong periodic cancer screening for improving outcomes. *J Gastroenterol* 2014;49:1504-13.

121. Asahina Y, Tschuchyia K, Nishimura T, Muraoka M, Suzuki Y, Tamaki N, Yasuir Y, Hosokawa T, Ueda K, Nakanshinish H, Itakura J, Takhashi Y, Kurosaki M, Enomoto N, Nakawaga M, Kakinuma S, Watanabe M, Izumi N. Alfa-fetoprotein levels after interferon therapy and risk of hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2013;58:1253-62.
122. Sato A, Sata M, Ikeda K, Kumada T, Izumi N, Ashina Y, Chayama K, Kaneko S, Sakai A, Onji M, Hisasa Y, Oura T, Ozeki I, Yokosuka O, Shina S, Itsubio M, Nishiguchi S, Hirano K, Ide T, Sakisksa S, Yamasa T, Hidaka I, Tanaka M, Kim SR, Ichida T. Clinical characteristics of patients who developed hepatocellular carcinoma after hepatitis C virus eradication with interferon therapy: current status in Japan. *Intern Med* 2013;52:2701-2706.
123. Huang CF, Yeh ML, Tsai PC, Hsieh MH, UYang HL, Hsieh MY, Yang JF, Lin ZY, Chen SC, Wang LY, Dai CY, Huang JF, Chuang WL, Yu ML. Baseline gamma-glutamyl transferase levels strongly correlate with hepatocellular carcinoma development in non-cirrhotic patients with successful hepatitis C virus eradication. *J Hepatol* 2014;61:67.
124. Nojiri K, Sugimoto K, Shiraki K et al. Development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis more than 10 years after sustained virological response to interferon therapy. *Oncol Lett* 2010;1:427-430.
125. Sato M, Kato N, Tateishi R, Muroyama R, Kowatari N, Li W., Goto K, Otsuka M, Shina S, Yoshida H, Omata M, Koike K. IL28B minor allele is associated with a younger age of onset of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol* 2014;49:748-755.

126. Tachi Y, Hirai T, Miyata A, Ohara K, Lidia T, Ishizu Y, Honda T, Kuzuva T, Hayashi K, Ishigami M, Goto H. Progressive fibrosis significantly correlates with hepatocellular carcinoma in patients with a sustained virological response. *Hepatol Res* 2015;45(2):238-246.
127. Jung Lee, Yeon JE, Uoon Eilee, Suh SJ, Kang K, Kim HER, Kang SH, Yoo YJ, Je J, Kim JH, S YS, Yim HJ, Buyn KS. Long term follow-up of chronic hepatitis C patients treated with interferon-alpha: risk of cirrhosis and hepatocellular carcinoma in a single center over 10 years. *Intervirology* 2015;58:14-21.

