

Tesis doctoral

**Tratamiento de la recurrencia de la infección
por VHC en pacientes trasplantados
hepáticos. Optimización del proceso**

Isabel Campos Varela

Directores

Dr. Lluís Castells Fusté

Dr. Juan Ignacio Esteban Mur

Departamento de Medicina

Facultad de Medicina,

Universitat Autònoma de Barcelona

Barcelona 2013



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

Tesis doctoral

**Tratamiento de la recurrencia de la infección
por VHC en pacientes trasplantados
hepáticos. Optimización del proceso**

Isabel Campos Varela

Directores

Dr. Lluís Castells Fusté

Dr. Juan Ignacio Esteban Mur

Departamento de Medicina

Facultad de Medicina,

Universitat Autònoma de Barcelona

Barcelona 2013

Dr. Lluís Castells Fusté

Dr. Juan Ignacio Esteban Mur

Isabel Campos Varela



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

Abreviaturas

-2LL	Reducción del logaritmo de la razón de verosimilitud
95%IC	Intervalo de confianza 95%
ARN	Ácido ribonucleico
ALT	Alanino aminotransferasa
AA-D	Antivirales de acción directa
AST	Aspartato aminotransferasa
AUROC	Área bajo la curva de la característica operativa del receptor
CMV	Citomegalovirus
EPO	Eritropoyetina
G-CSGF	Factores estimulantes de colonias granulocíticas
GGT	Gamma glutamil transpeptidasa
GPVH	Gradiente de presión venosa portal
HR	Hazard ratio
IP	Inhibidores de la proteasa
IL28B	Interleucina 28B
IFN	Interferón
kPa	Kilopascal
OR	Odds ratio
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
RFT	Respuesta a final de tratamiento
RVP	Respuesta viral precoz
RVR	Respuesta viral rápida
RVS	Respuesta viral sostenida
RBV	Ribavirina
ROC	Característica operativa del receptor
Se	Sensibilidad
Sp	Especificidad
TH	Trasplante hepático
TD	Tratamiento diferido
TP	Tratamiento precoz
VPN	Valor predictivo negativo
VPP	Valor predictivo positivo
VHC	Virus de la hepatitis C
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana

Índice

I. Introducción	5
1. Relevancia del tratamiento antiviral de la recurrencia del VHC tras el trasplante hepático.....	5
2. Historia natural de la infección por el VHC antes y después del trasplante hepático.....	6
3. Tratamiento de la infección por VHC.....	10
4. Relevancia del polimorfismo del gen de la IL28B.....	21
5. Avances, manejo de las variables de donante y receptor y modelos pronósticos.....	22
II. Justificación de la unidad temática de la tesis	25
III. Estudio 1	26
Resultados del tratamiento antiviral precoz versus tardío en la recurrencia de la infección por VHC en pacientes receptores de trasplante hepático.	
1. Resumen de las hipótesis, objetivos, procedimientos y resultados globales del estudio	
IV. Estudio 2	66
Predictores precoces de respuesta al tratamiento antiviral de la recurrencia de la infección por VHC en pacientes receptores de trasplante hepático.	
1. Resumen de las hipótesis, objetivos, procedimientos y resultados globales del estudio	
V. Estudio 3	95
Monitorización de ARN-VHC a la semana 12 tras tratamiento antiviral para predecir la respuesta viral sostenida en pacientes con recurrencia de infección por virus hepatitis C tras trasplante hepático	
1. Resumen de las hipótesis, objetivos, procedimientos y resultados globales del estudio	
VI. Discusión	103
1. Estudio 1.....	103
2. Estudio 2.....	107
3. Estudio 3.....	109
4. Resumen.....	110
5. Limitaciones.....	111
6. Proyectos futuros.....	112
VII. Conclusiones	114
VIII. Bibliografía	115

I. Introducción

1. Relevancia del tratamiento antiviral de la recurrencia del VHC tras el trasplante hepático

Tras el trasplante hepático la reinfección del injerto por el virus de la hepatitis C (VHC) es universal y su tratamiento es el principal elemento capaz de modificar la evolución natural de estos pacientes.

El injerto hepático se re infecta tras la reperusión del órgano (1,2) y los cambios histológicos de daño hepático son objetivables a los 9 días post-trasplante hepático (TH) (3,4).

Estudios recientes han puesto de manifiesto que la supervivencia a largo plazo (5-10 años) del injerto y del paciente son significativamente menores en los pacientes trasplantados por infección por VHC cuando se comparan con los pacientes trasplantados por otras etiologías (5), por tanto, la prevención y el mejor manejo de la recurrencia de la infección por VHC tras el TH se ha convertido en uno de los principales objetivos en la mayoría de los centros de trasplante hepático.

A pesar de la mejoría en el pronóstico de los pacientes trasplantados hepáticos relacionada con las mejoras terapéuticas, asociadas al perfeccionamiento de la técnica quirúrgica, el mejor manejo de los tratamientos inmunosupresores y antivirales, la evolución a cirrosis hepática y la mortalidad siguen siendo altas. La introducción inicialmente de los tratamientos con interferón pegilado (Peg-IFN- α) y ribavirina (RBV) y posteriormente de los antivirales de acción directa (AA-D) (actualmente en uso

Telaprevir y Boceprevir) así como la incorporación a la práctica clínica de nuevas herramientas como la determinación del polimorfismo del gen de la IL28B *rs12979860* tanto en el donante como en el receptor (6,7) han mejorado el manejo y han permitido optimizar los tratamientos, pero sin alcanzar las tasas de respuesta de los pacientes no trasplantados y sin que el pronóstico de los pacientes con recurrencias en forma de hepatitis colostásicas fibrosantes haya cambiado sustancialmente (8,9). El manejo de los factores implicados, de donante y receptor así como las mejores estrategias terapéuticas son todavía insuficientes.

Por todo esto mejorar la respuesta al tratamiento antiviral en estos pacientes sigue siendo una prioridad en este ámbito. La estrategia para lograrlo ha de pasar por una parte por la incorporación de nuevos tratamientos más eficaces y con menos efectos secundarios que los actuales; y, por otro, y mientras se consigue lo primero, por un mejor manejo y optimización del uso de las terapias disponibles en la actualidad.

2. Historia natural de la infección por el VHC antes y después del trasplante hepático

La infección por VHC es la causa más frecuente de hepatopatía crónica y la primera causa de cirrosis hepática, hepatocarcinoma y la primera indicación de trasplante hepático (TH) en nuestro medio, con una prevalencia en España del 2,5% y afectando al 3% de la población mundial (10).

Antes del trasplante hepático

Tras la exposición viral se produce la fase aguda de la infección, la cual es asintomática en el 80% de los casos, lo que dificulta el diagnóstico. Normalmente la infección se detecta en la fase crónica mediante análisis clínicos rutinarios o en el momento de realizarse una donación de sangre. La mayor parte de las infecciones cronifican (65-80%), con persistencia del ARN-VHC en sangre. Esta persistencia de la infección se explica porque el VHC evade la respuesta inmunitaria multiespecífica evolucionando a la cronificación de la infección. En el 30% de los pacientes la lesión hepática evoluciona hacia cirrosis, insuficiencia hepática terminal y hepatocarcinoma entre los 30-40 años posteriores a la infección, mientras que en el resto de los pacientes la evolución de la lesión hepática es mínima (11). La cirrosis representa la fase terminal de cualquier enfermedad hepática, y según progresa el grado de fibrosis, aumenta la presión portal y se deteriora la función hepática, dando paso al desarrollo de descompensaciones clínicas (ascitis, hemorragia por varices, encefalopatía hepática, ictericia). El desarrollo de cualquiera de estas complicaciones marca la transición de la fase compensada a la descompensada de la cirrosis, esto sucede a una tasa anual de 5-7%. La aparición de hepatocarcinoma puede acelerar el curso de la enfermedad en cualquiera de los estadios. La supervivencia de los pacientes con cirrosis compensada es mayor que la de los pacientes en fase descompensada, con una mediana de supervivencia desde el diagnóstico de 12 y 2 años respectivamente (12).

En la cirrosis por VHC el tiempo que transcurre hasta llegar a una situación terminal por insuficiencia hepática y/o hepatocarcinoma es variable, y puede verse favorecida por la coexistencia de otros factores (ingesta de alcohol, co-

infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) o la esteatosis), y llegado este punto, el único tratamiento potencialmente curativo es el TH.

Tras el trasplante hepático

La reinfección por VHC tras el TH se produce desde el momento de la reperusión del injerto de modo que a las 72 horas del TH ya se consiguen niveles de ARN-VHC en sangre similares a los pre-TH (3). Aunque la velocidad de progresión de la fibrosis en los pacientes trasplantados por VHC es muy variable, esta acontece de forma mucho más acelerada que en los pacientes inmunocompetentes, de modo que en ausencia de tratamiento antiviral, la cirrosis se desarrolla en una mediana de 8 a 10 años (13,14), mientras que se estima que un 30% alcanzará la fase de cirrosis en los primeros 5 años tras el TH y un 40% a los 10 años (2). En esta situación el riesgo de descompensación es del 15 al 30% en el primer año desde la aparición de la cirrosis con una mortalidad del 40 al 55% dentro de los 6-12 meses tras la primera descompensación. Esta mayor aceleración en la progresión de la fibrosis en los pacientes portadores de TH hace que la principal causa de pérdida del injerto y de muerte de estos pacientes sea la insuficiencia hepática secundaria a la recurrencia de la cirrosis por VHC, lo que condiciona que la supervivencia del paciente y del injerto están reducidas en los pacientes infectados por VHC frente a los no-infectados, con una supervivencia del 70% a los 5 años (2,13,14). La evolución posterior de estos pacientes viene determinada por lo sucedido a lo largo del primer año tras el TH. El pico de AST sérico y las cifras de bilirrubina en el momento de la recurrencia de la infección por VHC se asocian a una mayor progresión de la fibrosis del injerto (15,16,17). Los

hallazgos histológicos como la presencia de colestasis histológica, balonización hepatocelular, necrosis confluyente y la actividad necroinflamatoria al año se relacionan también con la gravedad de la recurrencia y la progresión a cirrosis (17-22).

La evaluación de la magnitud de la repercusión de la recurrencia de la infección por VHC en el injerto se puede realizar mediante la determinación del estadio de fibrosis hepática o su estimación indirecta con la medición del gradiente de presión venosa hepática (GPVH). La presencia de fibrosis significativa ($F \geq 2$) o un GPVH ≥ 6 mmHg al año del TH se relacionan con una recurrencia más grave y un aumento del riesgo de desarrollar complicaciones (23). La estimación de la fibrosis hepática mediante la elastografía de transición permite una buena aproximación no invasiva, de modo que un valor superior a 8,7 kPa en 2 determinaciones se correlaciona de forma significativa con un grado de fibrosis avanzada y es una indicación para la realización de una biopsia hepática para confirmar o descartar su presencia (24). Otro abordaje no invasivo para estimar la presencia de un grado de fibrosis avanzada es la determinación de marcadores serológicos, algunos ejemplos de ellos son el Fibrotest (alfa-2-macroglobulina, apolipoproteína-A1, haptoglobina, bilirrubina, GGT), APRI (AST, plaquetas), Forns (edad, GGT, colesterol, plaquetas) o Benlloch (AST, tiempo de protrombina) o los marcadores serológicos de fibrogénesis como el ácido hialurónico, procolágeno tipo 4, YKL-40, pro-péptido del colágeno tipo III, metaloproteasas o sus inhibidores (25-30).

Se conocen varios factores que se han asociado con una mayor velocidad en la progresión histológica como son el género del receptor, la edad avanzada del donante, el genotipo IL28B del donante y del receptor, el desarrollo de

síndrome metabólico post-TH, la infección por citomegalovirus (CMV), la patología biliar, la co-infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), el tipo y la intensidad de la inmunosupresión, la esteatosis hepática y la respuesta al tratamiento antiviral (2,6,7,31-37).

Dado el mal pronóstico de los pacientes portadores de TH por VHC sin tratamiento, es fundamental conseguir una respuesta viral sostenida (RVS) con el fin de mejorar su evolución y no llegar a la insuficiencia hepática sobre el injerto, momento en el cual únicamente el re-trasplante sería una opción terapéutica, que está muy limitada por la optimización de los órganos y la menor supervivencia en el re-TH (8,38).

En los últimos años se ha perfeccionado el conocimiento de los factores relacionados con la evolución y respuesta al tratamiento. La identificación de los pacientes con elevado riesgo de mala evolución y el poder estimar sus posibilidades de curación, junto con la incorporación de los nuevos tratamientos antivirales hace que la detección precoz de estos pacientes adquiera una mayor relevancia en el manejo de la hepatitis post-TH.

3. Tratamiento de la infección por VHC

El objetivo del tratamiento antiviral es prevenir el desarrollo de una lesión histológica grave que progrese a cirrosis hepática. La respuesta al tratamiento o respuesta viral sostenida (RVS), ha sido considerada como una variable viral en lugar de clínica y clásicamente se ha definido como la ausencia de ARN-VHC en suero, mediante una PCR sensible, a las 24 semanas tras la finalización del tratamiento o como recientemente se ha postulado, a las 12 semanas (39).

Cinética viral. Definiciones

Se resumen las variables virales en la Tabla 1 (40).

Tabla 1. Respuesta viral durante el tratamiento antiviral y definiciones

Respuesta viral	Definición	Utilidad clínica
Respuesta viral rápida (RVR)	ARN-VHC negativo en la semana 4 mediante PCR con límite de detección <50 UI/mL	Permite acortar tratamiento en pacientes con G2&3 y G1 con carga viral baja
Respuesta viral precoz (RVP)	Descenso ≥ 2 log ₁₀ ARN-VHC (parcial) o ARN-VHC negativo (completa) a la semana 12	Predice la falta de RVS
Respuesta al final del tratamiento (RFT)	ARN-VHC negativo a las 24 ó 48 semanas del tratamiento	
Respuesta viral sostenida (RVS)	ARN-VHC negativo a las 24 semanas tras finalizar el tratamiento	Mejor predictor de respuesta a largo plazo
Breakthrough	Reaparición del ARN-VHC en suero durante el tratamiento	
Recidiva	Reaparición del ARN-VHC en suero tras la discontinuación del tratamiento	
No respondedores	Imposibilidad para lograr la negatividad del ARN-VHC tras 24 semanas de tratamiento	
Respondedores nulos	Imposibilidad para disminuir el ARN-VHC <2 log ₁₀ tras 24 semanas de tratamiento	
Respondedor parcial	Descenso de 2 log ₁₀ ARN-VHC, pero positivo en la semana 24	

Utilidad de la RVR en pacientes con infección por VHC genotipo 1 en paciente no trasplantados hepáticos

Varios estudios (41, 42) han puesto de manifiesto tasas de RVS de 89% en pacientes que conseguían la RVR y de 19% en los que no, alcanzando tasas de curación similares con ciclos de 24 y 48 semanas de tratamiento. Los factores que se asocian con lograr la RVR son una carga viral baja y la infección por genotipo subtipo 1b. Estos resultados sugieren que pacientes genotipo 1 que logran obtener una RVR pueden ser tratados con éxito durante 24 semanas.

Utilidad de la RVR en pacientes con infección por VHC genotipo 2 y 3 en pacientes no trasplantados hepáticos

Varios estudios han intentado evaluar la utilidad de la RVR en pacientes con genotipo 2 y 3, para reducir la duración del tratamiento de 24 a 16-12 semanas. Las tasas de RVS de 62-94% eran comparables a las alcanzadas con tratamientos de 24 semanas (70-95%). En base a estos datos algunos autores han sugerido que los pacientes que alcanzaban una RVR podían completar ciclos de tratamiento de 12-16 semanas. Sin embargo un reciente estudio multicéntrico, incluyendo 1.469 pacientes ha puesto en duda este concepto, demostrando que el tratamiento de 24 semanas es superior al de 16 (tasa de RVS 76% versus 65%, respectivamente, $p < 0,001$), incluso en aquellos que alcanzaban una RVR (43).

Utilidad de la RVP en pacientes no trasplantados hepáticos

La ausencia de RVP es el marcador más robusto para identificar a los pacientes no respondedores. El 97% de los pacientes naïve genotipo 1 que no alcanzan una RVP no logran una RVS. No es sin embargo un marcador tan

potente para identificar a los pacientes que van a curarse, ya que solo el 65-72% de los pacientes que la alcanzan llegaran finalmente a una RVS. Una RVP completa es mucho mejor predictor de SVR que cuando es parcial (83 vs 21%) (44). Su utilidad es mucho menor en pacientes con genotipo 2 y 3 ya que la mayoría que son negativos en la semana 12 se curan.

En resumen la RVR es un potente predictor de la RVS (VPP>96%) y no alcanzar la RVP es un predictor de no lograr la RVS (VPN>75%), independientemente de haber recibido o no tratamientos previos (45).

Utilidad de la RVR y RVP en pacientes trasplantados hepáticos

Muchos datos extraídos de la población de inmunocompetentes han sido aplicados al colectivo de pacientes TH, pero pocos estudios han sido dirigidos de manera específica a la valoración de estos parámetros de cinética viral y aunque los resultados son uniformes respecto a la RVP, no lo son para la RVR (46- 49).

Tratamiento antiviral

El tratamiento antiviral estándar consiste en la combinación de Peg-IFN- α y RBV en dosis dependientes del peso (50). Con este tratamiento los pacientes inmunocompetentes con genotipo viral 1 y 4 alcanzan aproximadamente una RVS de un 50% con 48 semanas de tratamiento, mientras que en los pacientes con genotipo viral 2 y 3 la tasa de RVS se sitúa alrededor del 80% con esquemas de tratamiento de 24 semanas (40). En los pacientes trasplantados hepáticos la tasa de RVS es significativamente inferior oscilando entre el 8-50% según los datos extraídos de una revisión de 19 estudios con 611 pacientes.

Mientras que los pacientes con infección por VHC genotipo 1 la tasa de RVS media es de 28,7%, en los pacientes con infección por VHC genotipos 2-3 oscila entre 66-100% (51).

Los AA-D como los inhibidores de la proteasa, u otros inhibidores de las proteínas no estructurales representan un gran avance en el tratamiento de la infección por VHC. Los dos inhibidores de la proteasa (IP), boceprevir y telaprevir, representan la primera generación de AA-D en pacientes con genotipo 1 y se caracterizan por ser unos potentes inhibidores del citocromo P450 3A4. En pacientes inmunocompetentes no tratados previamente la tasa de respuesta es de 67-75%; en pacientes previamente tratados y con recidiva previa 69-88%; para respondedores parciales previos 40-59%; y para no respondedores previos 29-33% (52- 54).

Estrategias terapéuticas en los pacientes trasplantados hepáticos

Una estrategia para evitar la recurrencia de la infección por VHC post-TH es la administración del tratamiento antiviral antes del TH con la intención de llegar al momento del TH con ARN-VHC indetectable. Se han evaluado 2 abordajes; administrar esquemas completos de tratamiento con Peg-IFN- α y RBV y esquemas cortos de tratamiento (3-4 meses), ya que la realización del TH con ARN-VHC indetectable puede prevenir la reinfección aunque el tratamiento haya sido incompleto. Ambas estrategias alcanzan resultados similares consiguiendo la erradicación de la infección post-TH en un 20% de los pacientes. La mayor limitación del tratamiento en esta fase es la baja aplicabilidad y el elevado índice de efectos adversos en pacientes con cirrosis avanzada, entre los que destaca la mayor incidencia de infecciones

bacterianas, especialmente de peritonitis bacteriana espontánea (55,56). Por tanto la indicación de esta estrategia queda limitada a pacientes con función hepática preservada; Child A con hepatocarcinoma, especialmente en aquellos pacientes infectados con genotipo 2/3 o a aquellos pacientes infectados con genotipo 1 con perfil virológico favorable (baja carga viral y/o con genotipo de la ILB28 CC (9,57).

El aumento de la tasa de RVS conseguido con la introducción de los nuevos IP en pacientes con genotipo 1, esto puede ser especialmente útil en este contexto, ya que están descritas tasas de negativización del ARN-VHC de hasta 93% con 8 semanas de tratamiento en pacientes previamente tratados (58). En este contexto hay que destacar los resultados conocidos gracias al programa francés de acceso precoz (CUPIC) que ha permitido la administración de estos fármacos como uso compasivo en pacientes cirróticos.

El gran inconveniente en el uso de estos nuevos tratamientos en pacientes con cirrosis es que presentan una tasa de eventos adversos graves de entre 29-51% mucho más que las cifras que conocíamos hasta ahora de 9-14% de eventos adversos en los ensayos fase III, así como una tasa de discontinuación de tratamiento debido a eventos adversos que fue del 6 al 12%.

Otra limitación a tener en cuenta es la posibilidad de selección de resistencias virales, sobre todo en estos pacientes que pueden requerir interrupción del tratamiento, lo que podría limitar el uso de los AA-D en el post-TH (59). Estos resultados hacen que la indicación de tratamiento antiviral incluyendo IP en pacientes cirróticos tenga que realizarse de forma muy seleccionada y con un estrecho seguimiento clínico y analítico.

Tras el TH las estrategias terapéuticas dependen del momento del inicio del tratamiento. Se han realizado abordajes profilácticos, siguiendo la estrategia utilizada en la prevención de la reinfección del injerto por el virus de la hepatitis B, con la administración de inmunoglobulinas anti-VHC específicas a diferentes dosis y en comparación con placebo, para evitar la reinfección del injerto, comenzando las infusiones en la fase anhepática y hasta los 98 días post-TH (60), pero esta estrategia no ha demostrado ser eficaz en la prevención de la reinfección del injerto y actualmente no juega ningún papel en el manejo de la recurrencia del VHC tras el TH.

Otro abordaje precoz, denominado *preemptive therapy* o tratamiento anticipado, es aquel que se realiza en las primeras semanas post-TH (habitualmente entre las 2-8 semanas) y antes de que se desarrolle la lesión histológica. Las ventajas teóricas serían una carga viral más baja en esas primeras fases de la re-infección y la supuesta mejor respuesta al tratamiento antiviral en ausencia de fibrosis. La viremia es mínima en la fase anhepática e inmediatamente después de la cirugía, pero aumenta rápidamente, siendo en las 2-3 semanas tras el TH incluso superior a la carga viral pre-TH. Por otra parte, la reinfección histológica se puede objetivar habitualmente entre el primer y sexto mes post-TH. Por tanto, la mayoría de autores creen que la ventana terapéutica para empezar este tratamiento anticipado es prácticamente inexistente (61-66).

Las principales limitaciones para el inicio del tratamiento en las primeras semanas post-TH son las dificultades inherentes a la situación clínica de los pacientes (todavía en recuperación post-cirugía), sometidos a dosis más elevadas de inmunosupresión, frecuentes citopenias, y con un elevado riesgo de desarrollar rechazo agudo. Todo ello hace la tolerancia al tratamiento con

Peg-IFN- α y RBV (frecuentemente empeorada por la mayor incidencia de insuficiencia renal) sean mucho menores, obligando a reducciones de las dosis hasta en un 70% de los pacientes, y hasta un 30% de los pacientes abandonan el tratamiento, lo que condiciona unos peores resultados con unas tasas de RVS que oscilan entre el 8-39% (5-33% para pacientes con infección por genotipo 1, y 14-100% para pacientes con genotipo 2-3) (61-66). Todo ello hace que esta estrategia sea poco aplicable y en el momento actual no puede ser recomendada (56).

Otra opción es abordar el tratamiento una vez se detecta la lesión hepática. Iniciar el tratamiento antiviral en la fase aguda de la recurrencia de la infección por VHC es una estrategia poco estudiada. En un estudio previo de nuestro grupo, con 24 pacientes (67) con evidencia bioquímica e histológica de hepatitis aguda se realizó tratamiento antiviral, comparando con una cohorte de 24 pacientes no tratados, se demostró que el tratamiento en esta fase era eficaz (obtuvo una RVS de 35%) y seguro, con buena tolerancia, sin mayores efectos secundarios de los esperados y sin un mayor riesgo de desarrollar rechazo agudo. En un estudio similar, Zimmermann et al (68) con 26 pacientes tratados en la fase aguda de la recurrencia obtiene una RVS de 19%, frente al 0% de la cohorte histórica con la que los compara. Uno de los inconvenientes de esta estrategia es el riesgo de tratar de forma precoz pacientes con poco riesgo de desarrollar fibrosis avanzada en los que la evolución demostraría que no eran subsidiarios de haberlo recibido. Es por tanto una estrategia a considerar, aunque se necesitan más estudios para poder recomendar su uso (9).

La mayoría de grupos, optan por iniciar el tratamiento una vez que la fibrosis está establecida, normalmente a partir del año del trasplante (51). Las variables asociadas con las mejores tasas de RVS son infección por genotipo 2-3, escasa fibrosis ($F < 2$), donante joven (menor de 60 ó 65 años, según la mayoría de estudios), carga viral basal baja (51), la IS con ciclosporina en algunos estudios (69-71) y el genotipo CC del receptor de forma constante y en algunos estudios también del donante (6,7,71-73). Entre los factores más importantes, relacionados con alcanzar la RVS se encuentra la adherencia al tratamiento y alcanzar la RVR y la RVP (51,74).

Un estudio reciente (74) analiza la eficacia del re-tratamiento mediante un esquema terapéutico agresivo en los pacientes que no alcanzaron la RVS en un primer ciclo. En estos pacientes un segundo tratamiento consigue hasta un 35% de RVS, un 25,7% entre los no respondedores previos y un 44% en los pacientes que habían recidivado. Las diferencias fundamentales entre el primer y el segundo tratamiento fueron una mayor proporción de pacientes con cirrosis y mayor edad en el segundo ciclo terapéutico. Sin embargo, los pacientes tratados por segunda vez recibían menos corticoides, más dosis de RBV, más pacientes recibían transfusiones, eritropoyetina y factores estimulantes de colonias granulocíticas, y la duración del tratamiento era significativamente mayor. Con todo esto los factores asociados en el análisis univariado con la RVS fueron la edad del receptor en el momento del tratamiento, la fibrosis pre-tratamiento, alcanzar la RVR, alcanzar la RVP, la duración del tratamiento, las dosis de Peg-IFN- α y RBV y el número de modificaciones de estas dosis. Según estos resultados, una falta de respuesta en un primer tratamiento antiviral no es un factor que deba impedir la realización de un segundo

tratamiento, aunque el papel de los nuevos antivirales cambiará próximamente estos esquemas terapéuticos.

Globalmente, la eliminación del VHC, se asocia con un beneficio a largo plazo (8). Varios estudios retrospectivos ponen de manifiesto una mayor supervivencia y menor riesgo de descompensación entre los pacientes que reciben tratamiento antiviral, incluso entre los que no alcanzan una RVS (8,75-77) Un estudio aleatorizado (78) demostró que el tratamiento antiviral se asocia a la estabilización o mejoría histológica y hemodinámica, incluso en los pacientes que no alcanzan la RVS, pero si una respuesta bioquímica, definida como la normalización de las transaminasas durante el tratamiento antiviral, con un aumento de la supervivencia.

En este sentido y en base al efecto beneficioso del tratamiento antiviral incluso en ausencia de RVS se ha sugerido que en casos de ausencia de respuesta viral, pero con respuesta bioquímica el tratamiento antiviral de mantenimiento puede tener un papel en el enlentecimiento de la progresión histológica (79). Sin embargo la falta de una mayor evidencia hace que por el momento solo pueda ser recomendado dentro del seno de ensayos clínicos, pacientes con fibrosis basal avanzada (F3-F4), pacientes que los que se pueda demostrar un beneficio hemodinámico, histológico o mediante elastografía y en pacientes que hayan conseguido normalizar las transaminasas. Respecto al tipo de tratamiento de mantenimiento, los datos son insuficientes para recomendar tratamiento con Peg-IFN- α a dosis bajas o en combinación con dosis bajas de RBV (9).

Respecto a los AA-D, en los pacientes portadores de TH, al tratarse de potentes inhibidores del citocromo P450 3A4 se genera una interferencia con el

metabolismo de tacrolimus y ciclosporina, incrementándose los niveles en sangre de dichos inmunosupresores en 70 y 4,5 veces respectivamente en el caso de telaprevir (80). Con boceprevir el aumento de niveles en sangre es de 17 y 2,7 veces para tacrolimus y ciclosporina respectivamente (81). El estrecho margen terapéutico de los fármacos inmunosupresores exige que el manejo de estas combinaciones sea muy cuidadoso. En cuanto a la efectividad de dichos nuevo fármacos, estudios recientes han comunicado resultados preliminares con unas tasas de negativización de ARN-VHC a la semana 12 del 76%. En el momento actual los estudios están todavía en marcha y no se conocen los resultados de seguridad y eficacia definitivos, y hay que ser cautos con la interpretación de estos datos (14, 82, 83).

Efectos secundarios

Representan la primera causa de la reducción de dosis y de interrupción del tratamiento. Los efectos secundarios más frecuentes del tratamiento con Peg-IFN- α y RBV incluyen alteraciones hematológicas, especialmente anemia (60-80%), más frecuente que en los pacientes no trasplantados por la insuficiencia renal que frecuentemente presentan, tolerando dosis más bajas de RBV, alteraciones neuropsiquiátricas (10-15%), alteraciones tiroideas, mala tolerancia clínica e infecciones (15-25%).

Para evitar las reducciones de dosis y poder completar el tratamiento, la mayoría de grupos aboga por el uso adyuvante de eritropoyetina (EPO) y factores estimulantes de colonias granulocíticas (G-CSGF). Estos fármacos aumentan la tolerancia, pero no hay datos de que aumenten la eficacia del tratamiento antiviral (84).

Otra posible complicación es el desarrollo de rechazo o hepatitis autoinmune, incluso una vez finalizado el tratamiento. Las recomendaciones son no reducir la inmunosupresión excesivamente durante el tratamiento antiviral ni en el mes siguiente a la finalización de éste (9).

Respecto a los AA-D, estos fármacos tienen su propio perfil de efectos secundarios, que incluye la toxicidad dermatológica (telaprevir), y la anemia. En las series de las que conocemos los datos preliminares hasta ahora, el uso de eritropoyetina es constante (92%), la reducción de RBV se produce en hasta el 100% de los pacientes y la necesidad de transfusiones sanguíneas llega hasta un 86%. Respecto a efectos secundarios que comprometan la vida uno de los grupos ha reportado 5 infecciones graves con 2 fallecimientos durante el tratamiento triple (62,80-83).

4. Relevancia del polimorfismo del gen de la IL28B

En los pacientes inmunocompetentes el polimorfismo *rs12979860* del gen de la IL28B (interferón lambda-3), situado en el cromosoma 19, está relacionado con la probabilidad de eliminar la infección por VHC, tanto de forma espontánea como tras tratamiento antiviral (85-87). El genotipo CC es el doble de frecuente en los pacientes que aclaran de forma espontánea la infección por VHC, que en los pacientes que la cronifican. A su vez, en pacientes con tratamiento convencional y genotipo 1, el haplotipo CC del polimorfismo *rs12979860* se asocia a tasas de RVS superiores a los de los haplotipos CT y TT, independientemente de la raza (69%, 33%, y 27% en caucásicos y 48%, 15% y 13% en afroamericanos; CC, CT y TT respectivamente) (88). La importancia de dicho polimorfismo viene dado por el hecho de que el valor predictivo del

genotipo de la IL28B para anticipar la RVS es superior al de los valores de ARN-VHC pre-tratamiento, estadio de fibrosis, edad y género y es mayor para el genotipo 1 que para los genotipos 2 y 3 (89).

En los pacientes trasplantados tanto el polimorfismo del donante como el del receptor han demostrado tener relación con la evolución natural de la fibrosis y con la respuesta al tratamiento antiviral. Los estudios son uniformes a la hora de demostrar una asociación entre el polimorfismo de la IL28 CC del receptor, recurrencias más leves y una tasa más elevada de RVS (6,7,60,61,87,90,91). Sin embargo no todos los trabajos obtienen los mismos resultados al estudiar la influencia del polimorfismo del donante, aunque si coinciden en demostrar unas tasas de RVS cercanas al 80% cuando el genotipo de la IL28B de donante y receptor es CC. Se ha descrito también que en ausencia de erradicación viral el genotipo CC del donante se asocia con una peor evolución, por lo es especialmente importante en los pacientes que reciben un órgano de un donante con genotipo CC recibir tratamiento antiviral lo más precozmente posible (72,90).

5. Avances, manejo de las variables de donante y receptor y modelos pronósticos

El conocimiento y el manejo de la infección por el VHC en pacientes trasplantados y no trasplantados ha cambiado de manera progresiva en los últimos años, demostrando ser un proceso dinámico que avanza a gran velocidad, con la consiguiente optimización del proceso médico.

La incorporación a la práctica clínica y al proceso terapéutico de los conocimientos de **cinética viral** marcó un cambio en el manejo del tratamiento de la infección por VHC.

Más recientemente, nuevos avances como el descubrimiento del polimorfismo del gen de la **IL28B rs12979860** tanto en el donante como en el receptor ha aportado un nuevo instrumento, respondiendo a antiguas preguntas sobre las diferentes tasas de respuesta en los distintos grupos de población, y su incorporación a la práctica clínica ha ayudado a optimizar el manejo del tratamiento de la infección por VHC.

La traducción o transferencia de la investigación a la práctica clínica continúa siendo un handicap, con una limitada incorporación de los avances. Las reglas clínicas de clasificación se utilizan para integrar información clínica y de laboratorio, y obtener así una estimación cuantitativa de un riesgo, un diagnóstico o un resultado clínico, proporcionando así un puente que permite unir los hallazgos de investigaciones originales con la práctica clínica. Se emplean para desarrollar árboles de decisión o modelos que optimicen la capacidad de una serie de parámetros para clasificar correctamente a los pacientes en 2 o más grupos (p.ej: enfermo/no enfermo, bajo/medio/alto riesgo) (92- 94).

Las características que tiene que reunir modelo pronóstico son: validez, relevancia, aplicabilidad en el contexto clínico, ser de fácil uso y aceptabilidad (92,93).

Aunque se han llevado a cabo varios intentos para identificar predictores de recurrencia grave de VHC, o de respuesta a tratamiento antiviral ninguno ha proporcionado una solución satisfactoria (32).

Los motivos por los cuales no se ha logrado la elaboración de un **modelo predictivo** de respuesta al tratamiento antiviral de los pacientes trasplantados hepáticos por VHC son múltiples. Entre ellos podríamos destacar que hasta ahora los intentos han ido dirigidos a identificar de manera aislada o en combinación de 2 las variables de mayor relevancia y no se ha realizado un intento de generar este tipo de modelos, por otra parte usados en otras disciplinas (95) y la dificultad para vencer el recelo de la comunidad médica al uso de estos modelos a menos que crean firmemente en ellos. Otra limitación a la hora de generar estos modelos es la variabilidad de los resultados obtenidos entre sujetos y entre grupos (32).

Sobre la base de los conocimientos actuales de las variables del donante y receptor, el siguiente paso ha de ser la búsqueda de modelos que de forma precisa mejoren la capacidad predictiva de las variables aisladas y permitan la creación de modelos que optimicen la toma de decisiones. Sin embargo se requiere la validación de estos modelos de forma exhaustiva antes de su implementación en la práctica clínica diaria.

II. Justificación de la unidad temática de la tesis

La optimización del tratamiento de la recurrencia de la infección por VHC en los pacientes trasplantados hepáticos es de gran interés, ya que esto permite mejorar la indicación del tratamiento antiviral, limitar efectos secundarios y disminuir costes, mejorando las tasas de RVS y de supervivencia de este grupo de pacientes.

Hasta el momento actual muchos son los factores que se han estudiado en relación con la indicación del tratamiento antiviral y su asociación, con las tasas de respuesta. Los tres estudios que conforman esta tesis abordan específicamente el manejo del tratamiento de la recurrencia de la infección por VHC en los pacientes trasplantados hepáticos. El estudio 1 evalúa el momento de la indicación del tratamiento antiviral, el estudio 2 aborda la elaboración de un modelo pronóstico, con el fin específico de identificar de manera temprana, con una combinación de factores basales y dinámicos precoces, que pacientes no van a responder al tratamiento antiviral estándar, evitar toxicidad o deben ser re-dirigidos a nuevas estrategias terapéuticas que incluyan fármacos más eficaces.

Finalmente, el estudio 3 se centra en un parámetro viral muy concreto y de la máxima importancia como es el establecimiento de la definición temporal de la curación de la infección de la infección por VHC, especialmente en los pacientes trasplantados, en los que las alteraciones de la bioquímica hepática pueden estar en relación a otros procesos y el poder establecer de forma precoz y definitiva la curación de la infección adquieren gran trascendencia.

III. Estudio 1

Resultados del tratamiento antiviral precoz versus tardío en la recurrencia de la infección por VHC en pacientes receptores de trasplante hepático

1. Resumen de las hipótesis, objetivos, procedimientos y resultados globales del estudio

Introducción

Tras el TH la reinfección del injerto es universal (1,2) y la progresión a la cirrosis hepática ocurre en un 10 a 30% de los pacientes a los 5 años del TH (13,32). Los resultados del trasplante hepático por VHC no han mejorado en los últimos años (96). El momento óptimo para iniciar el tratamiento antiviral no está totalmente definido. Generalmente la indicación para empezar el tratamiento se establece en base al estadio de fibrosis hepática al año del TH (97). Sobre la base de los resultados favorables del tratamiento de la infección aguda por VHC (39,98) se realizó un primer estudio (67) en el que se evaluó la seguridad y eficacia de tratar a los pacientes trasplantados por VHC en el momento de la recurrencia aguda de la infección, comparándolos con una cohorte de pacientes no tratados. Pocos estudios han evaluado la utilidad del tratamiento antiviral durante la fase aguda de la recurrencia de la infección por VHC (67,68), obteniendo tasas de RVS de 19 y 35%.

Hipótesis

En los pacientes trasplantados hepáticos por VHC, el tratamiento de la recurrencia de la infección por VHC en fase aguda es seguro y eficaz. La comparación con la estrategia terapéutica estándar basada en la fibrosis al año puede ayudar a determinar el momento óptimo para el tratamiento.

Objetivos

1. Analizar la respuesta viral sostenida en los pacientes receptores de TH por VHC que reciben tratamiento antiviral en la fase aguda de la recurrencia de la infección y compararla con los pacientes tratados en fase de hepatitis crónica activa.
2. Analizar la seguridad y tolerancia del tratamiento antiviral en los pacientes receptores de TH por VHC que reciben tratamiento antiviral en la fase aguda de la recurrencia de la infección por VHC y compararla con los pacientes tratados en fase de hepatitis crónica activa.
3. Analizar la supervivencia a largo plazo de los pacientes receptores de TH por VHC que reciben tratamiento antiviral en la fase aguda de la recurrencia de la infección y compararla con los pacientes tratados en fase de hepatitis crónica activa.

Pacientes y métodos

-Se diseñó un estudio retrospectivo, observacional, de pacientes seguidos de forma prospectiva tratados con Peg-IFN- α y RBV tras la recurrencia de la infección por VHC después del TH.

-Se utilizó una cohorte de pacientes trasplantados hepáticos por VHC entre 2001 y 2010 en el Hospital Universitari Vall d'Hebrón.

-De forma retrospectiva se clasificó a los pacientes según la histología hepática en el momento de recibir tratamiento antiviral:

Grupo de tratamiento precoz (TP): pacientes con hepatitis lobulillar aguda sin fibrosis.

Grupo de tratamiento diferido (TD): Pacientes con hepatitis crónica activa establecida.

Resultados

1. En el estudio se incluyeron 105 pacientes. Sesenta pacientes fueron tratados dentro del grupo de TP y 45 en el grupo de TD. La mediana de tiempo entre el TH y el inicio del tratamiento antiviral fue de 3 meses (rango 1-9) y de 18 meses (rango 11-74) en los grupos TP y TD respectivamente ($p < 0,001$).
2. La RVS fue similar en ambos grupos con un 23% para el grupo de TP y un 36% para el grupo de TD ($p = 0,2$).
3. La incidencia de efectos secundarios fue similar, excepto por una mayor incidencia de síntomas depresivos en los pacientes tratados en la fase crónica (18% TD vs 5% TP, $p = 0,05$).
4. En el análisis multivariado las variables asociadas con la RVS fueron alcanzar la RVR (OR 13,61, IC 95% 1,72-107,50, $p = 0,01$) y completar el tratamiento (OR 14,80, IC 95% 2,11-103,85, $p = 0,007$) analizando globalmente toda la cohorte.

5. Tras una mediana de seguimiento de 6,9 años (rango 0,4-11) en el grupo de TP y de 5,6 años (rango 1,1-13,5) en el grupo de TD ($p=0,7$), el análisis de supervivencia no mostro diferencias entre ambos grupos (Log-rank=0,06). Las causas de mortalidad fueron similares ($p=0,8$).

Figura 1.

6. El análisis multivariado de Cox identificó las siguientes variables relacionadas con la mortalidad; bilirrubina pre-tratamiento >2 mg/dL (HR 6,140, IC 95% 2,751-13,701, $p<0,001$), recibir un órgano de un donante > 60 años (HR 3,061, 95% IC 1,388-6,750, $p=0,006$) y no alcanzar la RVS (HR 10,31, IC 95% 1,28-8,33, $p=0,028$). En el grupo de TP las variables relacionadas fueron tener una bilirrubina pre-tratamiento >2 mg/dL (HR 4,936, 95% IC 1,920-12,687, $p=0,001$) y recibir un órgano de un donante > 60 años (HR 3,207, 95% IC 1,287-7,990, $p=0,012$). en el grupo de TD la única variable relacionada fue tener una bilirrubina pre-tratamiento >2 mg/dL (HR 8,709, 95% IC 1,897-39,977, $p=0,005$). Figura 2.

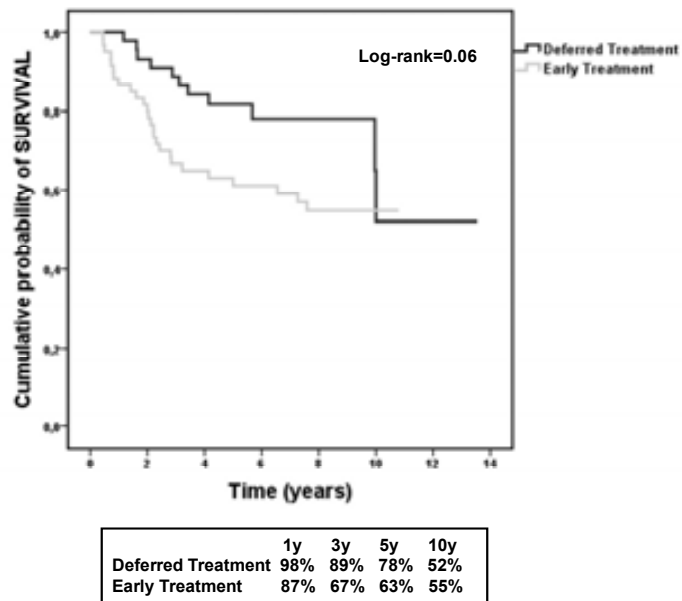


Figura 1. Gráfico donde se representa Kaplan-Meier que muestra la supervivencia según el grupo de tratamiento.

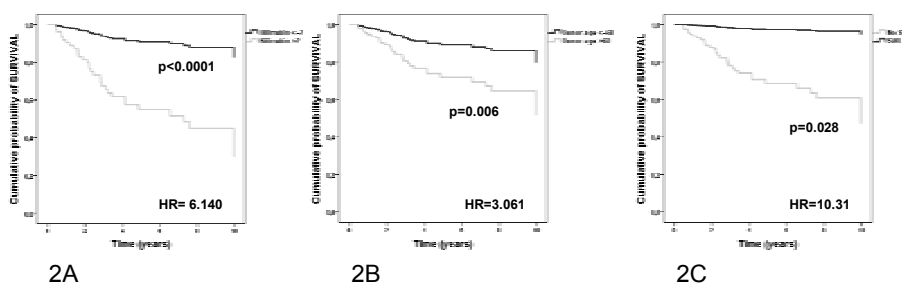


Figura 2. Gráfico donde se representan las curvas de supervivencia de las variables significativas mediante el análisis multivariado de Cox.

Liver Transplantation**Outcome of early versus deferred antiviral treatment for recurrent hepatitis C infection in liver transplant recipients**

Journal:	<i>Liver Transplantation</i>
Manuscript ID:	LT-13-046
Wiley - Manuscript type:	Original Articles
Date Submitted by the Author:	28-Jan-2013
Complete List of Authors:	<p>Campos-Varela, Isabel; Hospital Universitari Vall d'Hebron, Institut de Recerca (VHIR), Universitat Autònoma de Barcelona, Liver Unit, Department of Internal Medicine; Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Instituto de Salud Carlos III.,</p> <p>Esteban, Juan; Hospital Universitari Vall d'Hebron, Institut de Recerca (VHIR), Universitat Autònoma de Barcelona, Liver Unit, Department of Internal Medicine; Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Instituto de Salud Carlos III.,</p> <p>Bes, Marta; Hospital Universitari Vall d'Hebron, Institut de Recerca (VHIR), Universitat Autònoma de Barcelona., Transfusion Safety Laboratory, Banc de Sang i Teixits (BST); Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Instituto de Salud Carlos III,</p> <p>Charco, Ramón; Hospital Universitari Vall d'Hebron, Institut de Recerca (VHIR), Universitat Autònoma de Barcelona, Liver Transplant Unit, Department of HPB-Surgery and Transplant</p> <p>Allende, Helena; Hospital Universitari Vall d'Hebron, Institut de Recerca (VHIR), Universitat Autònoma de Barcelona, Pathology Department</p> <p>Rodríguez-Frías, Francisco; Biochemistry Laboratory, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Institut de Recerca (VHIR), Universitat Autònoma de Barcelona; Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Instituto de Salud Carlos III,</p> <p>Sauleda, Silvia; Hospital Universitari Vall d'Hebron, Institut de Recerca (VHIR), Universitat Autònoma de Barcelona., Transfusion Safety Laboratory, Banc de Sang i Teixits (BST); Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Instituto de Salud Carlos III.,</p> <p>Guardia, Jaime; Hospital Universitari Vall d'Hebron, Institut de Recerca (VHIR), Universitat Autònoma de Barcelona, Liver Unit, Department of Internal Medicine; Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Instituto de Salud Carlos III.,</p> <p>Esteban, Rafael; Hospital Universitari Vall d'Hebron, Institut de Recerca (VHIR), Universitat Autònoma de Barcelona, Liver Unit, Department of Internal Medicine; Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Instituto de Salud Carlos III.,</p> <p>Castells, Luís; Hospital Universitari Vall d'Hebron, Institut de Recerca</p>

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

	(VHIR), Universitat Autònoma de Barcelona, Liver Unit, Department of Internal Medicine; Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Instituto de Salud Carlos III.,
Keywords:	antiviral treatment, Deferred treatment, Early treatment, Hepatitis C virus, Liver transplant

SCHOLARONE™
Manuscripts

For Peer Review

1
2
3 **Title:** Outcome of early versus deferred antiviral treatment for recurrent
4
5 hepatitis C infection in liver transplant recipients
6
7

8
9 **Authors:** Isabel Campos-Varela^{1,6}, Juan Ignacio Esteban^{1,6}, Marta Bes^{2,6},
10
11 Ramón Charco³, Helena Allende⁴, Francisco Rodríguez-Frías^{5,6}, Silvia
12
13 Sauleda^{2,6}, Jaime Guardia^{1,6}, Rafael Esteban^{1,6}, Lluís Castells^{1,6}
14
15

16
17
18 ¹Liver Unit, Department of Internal Medicine, ²Transfusion Safety Laboratory,
19
20 Banc de Sang i Teixits (BST), ³Liver Transplant Unit, Department of HPB-
21
22 Surgery and Transplant, ⁴Pathology Department, ⁵Biochemistry Laboratory.
23
24 Hospital Universitari Vall d'Hebron, Institut de Recerca (VHIR), Universitat
25
26 Autònoma de Barcelona. Barcelona, Spain. ⁶Centro de Investigación Biomédica
27
28 en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Instituto de
29
30 Salud Carlos III, Madrid, Spain.
31
32

33
34 **Key words:** antiviral treatment, deferred treatment, early treatment, hepatitis C
35
36 virus, liver transplant, sustained virologic response, survival.
37

38 **Address reprint requests to:** Lluís Castells

39
40 Liver Unit, Department of Internal Medicine

41
42 Hospital Universitari Vall d' Hebron

43
44 Passeig Vall d'Hebrón 119-129

45
46 08035 Barcelona, Spain

47
48 Tel: 34.93.274.61.40

49
50 FAX: 34.93.274.60.68

51
52 E-mail: llcastells@vhebron.net
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 **Abbreviations:** 95CI, 95% Confidence Interval; AVT, antiviral treatment; CMV,
4 cytomegalovirus; DT, deferred treatment; DAA, direct acting antivirals; ET, early
5 treatment; ETR, end of treatment response; EVR, early virological response; Fk,
6 tacrolimus; HCV, hepatitis C virus; HIV, human immunodeficiency virus; HR,
7 hazard ratio; IL28B, Interleukin 28B; LT, liver transplantation; MELD, model of
8 end-stage liver disease MMF, mycophenolate mofetil; OR, odds ratios; PCR,
9 polymerase chain reaction; PEG-INF, pegylated interferon; RVR, rapid virologic
10 response; SVR, sustained virological response.
11
12
13
14
15
16
17
18
19

20
21 **Financial Support:**

22 Isabel Campos-Varela is a recipient of a 'Río Hortega' fellowship grant from the
23 Instituto de Salud Carlos III, and is enrolled in the postgraduate program of the
24 Universitat Autònoma de Barcelona. CIBERehd is supported by Instituto de
25 Salud Carlos III. This work has been partially supported by a grant (PI10/01505)
26 from the Spanish Ministry of Health.
27
28
29
30
31
32

33 **Conflict of interest disclosure:** Dr Rafael Esteban has attended advisor
34 meetings with Abbott, Boehringer Ingelheim, Bristol Myers-Squibb, Glaxo,
35 Gilead, Janssen Merck, and Novartis; has provided lectures on behalf of Abbott,
36 Boehringer Ingelheim, Bristol Myers-Squibb, Glaxo, Gilead, Janssen, Merck,
37 Novartis and Roche; and has served on a Data Safety Monitoring Board for
38 Novartis. The authors have no other potential conflicts of interest to disclose
39 regarding the manuscript.
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Abstract

The optimal timing to treat recurrent hepatitis C virus (HCV) after liver transplantation (LT) remains uncertain. We compared the outcome of early (acute phase) and deferred (chronic phase) antiviral treatment for recurrent HCV infection in this population. Consecutive LT patients receiving antiviral therapy between 2001 and 2010 were retrospectively classified according to histology at treatment start into the early or deferred treatment group. Measured endpoints included sustained viral response (SVR) rates and long-term survival. The study cohort comprised 105 patients: 60 (57%) received early treatment (ET) and 45 (43%) deferred treatment (DT). The median interval from LT to antiviral start was 3 (1-9) and 18 months (11-74) in ET and DT, respectively.

In recipients, IL28B *rs12979860* genotype was CC in 33% and non-CC in 67% and in donors, 47% and 53%, respectively. Patients in the ET group had a higher viral load, AST, and bilirubin levels, and lower hemoglobin levels.

The SVR rate was similar in the two treatment groups (23% ET and 36% DT; $p=0.2$). After a median follow-up of 5.8 years, all-cause and liver-related mortality were similar in the two groups. Variables independently associated with mortality included pre-treatment bilirubin >2 mg/dL (HR 6.140, 95% CI: 2.751-13.701; $p<0.001$), donor age >60 (HR 3.061, 95% CI: 1.388-6.750; $p=0.006$), and failure to achieve SVR (HR 10.31, 95% CI: 1.28-8.33; $p=0.028$).

In conclusion, early treatment of recurrent HCV is safe, but does not lead to higher SVR rates. In HCV-infected LT recipients, elevated bilirubin, older donor age, and failure to achieve SVR are independently associated with increased mortality.

Introduction

Cirrhosis secondary to hepatitis C virus (HCV) infection has become the most common indication for liver transplantation (LT). However, graft reinfection is almost universal (1,2), progression to cirrhosis occurs in 10% to 30% of patients 5 to 7 years following the procedure, and there is a high risk of clinical decompensation with poor survival (3-7). Management of recurrent HCV infection after LT has significantly improved during the past decade. Combined treatment with pegylated interferon (Peg-IFN) and ribavirin leads to sustained viral response (SVR) in 30% to 50% of patients (8-13). The optimal time to begin antiviral therapy (AVT) after LT is uncertain. The indication for treatment is usually established based on the fibrosis stage at one year (14). Few studies have evaluated the utility of treatment during the acute phase of recurrent HCV. Although this strategy has proven safe (15), reported SVR rates vary considerably from 19% to 35% (15,16).

This retrospective study was conducted to compare the efficacy, safety, and long-term outcome associated with AVT given during the acute phase of recurrent HCV infection (early treatment) with that of AVT administered during established chronic hepatitis C (deferred treatment).

Patients and Methods

The STROBE recommendations for reporting observational studies (17) were applied when preparing the manuscript. The study was approved by the ethics committee of our institution and all patients gave written informed consent.

Cohort recruitment and data collection

We reviewed the medical records of all consecutive adult HCV-infected patients who had undergone LT at Hospital Universitari Vall d'Hebrón, a third-level teaching hospital in Barcelona (Spain), between October 2001 and September 2010. The patient data was retrieved from a regularly updated database designed to assess the long-term outcome of LT. For each patient, the demographic, clinical, and analytical data at baseline, and the follow-up data during and after treatment were recorded by the attending physicians at each outpatient visit. These prospectively collected data were retrospectively analyzed.

Study design. This is a retrospective, observational study of prospectively monitored patients receiving AVT for recurrent HCV following LT. The primary endpoint of the analysis was SVR. Secondary endpoints included safety and tolerability of AVT and long-term survival.

Antiviral treatment criteria. The diagnosis of HCV recurrence was established on histological features and detectable HCV-RNA. Between April 2001 and October 2002, all LT patients with acute, recurrent HCV were given prompt treatment, regardless of their clinical or histological status, as participants in a prospective study (15). Subsequently, the indication for treatment was based on clinical and histological criteria. Patients with clinically mild recurrence and an Ishak fibrosis score ≥ 2 (18) in biopsies performed per protocol at 12 months after LT were treated. Patients who had more severe clinical recurrence in the opinion of the attending physician during the first year post-LT underwent liver biopsy and received treatment if there was histological

1
2
3 evidence of HCV recurrence and no evidence of graft rejection, biliary
4
5 obstruction, or ischemic injury.
6

7 **Treatment groups.** For the purposes of this study, patients who had
8
9 received AVT were retrospectively classified according to liver histology at the
10
11 time of treatment initiation into two groups: the early treatment group (ET)
12
13 included patients with evidence of acute lobular hepatitis without fibrosis, and
14
15 the deferred treatment group (DT) included patients with established chronic
16
17 active hepatitis.
18

19
20 Patients with HIV coinfection, non-1 HCV genotype, or fibrosing cholestatic
21
22 hepatitis, and those in whom viral load data at baseline or weeks 4 or 12 were
23
24 missing, were excluded from the study.
25

26
27 **Liver histology.** Biopsies were obtained percutaneously. Liver specimens were
28
29 fixed in formalin and embedded in paraffin. Two-micron sections were stained
30
31 with hematoxylin-eosin and Masson's trichrome for histological assessment. A
32
33 single experienced pathologist (H.A.), blinded to the clinical data, examined the
34
35 samples. Fibrosis stage was assessed according to Ishak's scoring system
36
37 (18).
38

39
40 **Immunosuppression.** In 2004, the immunosuppression protocol for HCV-
41
42 infected LT recipients at our center was changed from tacrolimus (Fk) (Prograf,
43
44 Astellas Pharma GmbH, Munich, Germany) plus steroids to Fk plus
45
46 mycophenolate mofetil (MMF) (CellCept, Roche Pharmaceuticals Inc, NJ, USA)
47
48 with or without low-dose steroid therapy when required, as reported (19). Fk
49
50 was started at standard doses and adjusted to achieve a 10-15 ng/mL blood
51
52 trough level during the first weeks. MMF was started at 1-2 g/day, depending on
53
54 white blood cell count. Methylprednisolone (when indicated) was administered
55
56
57
58
59
60

1
2
3 daily, starting at 20-mg doses and slowly tapering over the ensuing 6 months.
4
5 Patients with pre-transplant serum creatinine >1.5 mg/dL were initially given
6
7 basiliximab (Simulect, Novartis Pharma AG, Basel, Switzerland), plus MMF and
8
9 steroids, with subsequent introduction of low-dose Fk. Everolimus (Certican,
10
11 Novartis Pharma AG, Basel, Switzerland), when indicated (renal insufficiency
12
13 and/or rejection), was permitted at 4 to 6 months after surgery, either alone or in
14
15 combination with calcineurin inhibitors or MMF. Tacrolimus was switched to
16
17 cyclosporine (Sandimmun Neoral, Novartis Pharma AG, Basel, Switzerland)
18
19 when necessary due to side effects.
20
21

22 **Antiviral treatment regimen and response definitions.** Pegylated interferon
23
24 α -2b (Peg-Intron, Schering-Plough, Inc., Kenilworth, NJ) and ribavirin (Rebetol,
25
26 Schering-Plough, Inc., Kenilworth, NJ) were administered for 24 weeks. If HCV-
27
28 RNA tested positive at that time, treatment was stopped, and if negative, the
29
30 patient completed 48 weeks of treatment.
31
32

33
34 Pegylated interferon was initiated at 1.5 μ g/kg and was reduced to 1 μ g/kg
35
36 when neutrophils dropped below 1.5×10^9 /L or platelets dropped below 50×10^9 /L.
37
38 When neutrophil count was less than 1.0×10^9 /L, filgrastim (Neupogen 30,
39
40 Amgen SA, Barcelona) was initiated. Until 2003, ribavirin was started at 600
41
42 mg/day, and subsequently adjusted according to hemoglobin levels. If there
43
44 was no decrease in hemoglobin, the daily dose was increased to 800 mg/day.
45
46 Since 2003, the initial ribavirin dose has been weight-adjusted to 800-1200
47
48 mg/day. The initial dose was reduced if hemoglobin dropped below 9 g/dL, and
49
50 weekly darbepoetin- α (Aranesp, Amgen SA, Barcelona) was started if
51
52 hemoglobin failed to increase within 2 weeks.
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 Rapid virological response (RVR) was defined as undetectable HCV-RNA at
4
5 week 4, and early virological response (EVR), as a ≥ 2 \log_{10} viral load decrease
6
7 at 12 weeks. End-of-treatment response (ETR) was defined as undetectable
8
9 serum HCV-RNA at the end of therapy. Sustained virological response (SVR)
10
11 was defined as undetectable serum HCV-RNA 24 weeks after treatment
12
13 completion (20).
14
15

16 **Viral load testing** From 2001 to 2006, HCV-RNA was detected by a qualitative
17
18 polymerase chain reaction (PCR) assay (Cobas Amplicor HCV Test v2.0;
19
20 Roche Molecular Diagnostics, Barcelona, Spain; detection limit 50 IU/mL) and,
21
22 when positive, measured by a quantitative PCR assay (Cobas Amplicor HCV
23
24 Monitor Test v2.0; Roche Molecular Diagnostics, Barcelona, Spain; detection
25
26 limit 600 IU/mL). Since 2007, a real-time PCR-based test (Cobas
27
28 Ampliprep/Cobas TaqMan; Roche Molecular Diagnostics, Barcelona, Spain;
29
30 detection limit 15 IU/mL) has been used for HCV quantitation. HCV genotyping
31
32 was performed by line probe assay (Inno-LiPA II; Innogenetics, Antwerp,
33
34 Belgium).
35
36
37

38 **Genotyping of IL28B polymorphisms.** Genomic DNA from LT recipients and
39
40 their donors was extracted from formalin-fixed, paraffin-embedded biopsies of
41
42 liver explants (recipients) and grafts (donors) obtained at LT, using the QIAamp
43
44 DNA FFPE Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Germany). Genotyping of rs12979860
45
46 was performed using a real-time PCR with allele-specific Taq-Man probes, as
47
48 described previously (21, 22). IL28B rs12979860 was defined as CC, CT, or TT.
49
50

51 **Statistical analysis.** The patients' descriptive statistics are reported. Data are
52
53 presented as medians and range, and categorical variables as frequency and
54
55 percentage. Normality was determined by the Shapiro-Wilk test.
56
57
58
59
60

1
2
3 Differences between categorical variables were assessed by the chi-square test
4 or Fisher exact test. Continuous variables were compared using the Mann-
5 Whitney test. The propensity score was not used because it was assumed at
6 study design that there would be differences between the groups.
7

8
9
10
11 Multivariate logistic regression analysis was performed with variables showing a
12 significance level of $p < 0.1$. Results are expressed as odds ratios (OR) with 95%
13 confidence intervals (CIs). Survival analysis was performed with a Kaplan-Meier
14 and Cox-regression model including variables showing a significance level of
15 $p < 0.1$. Results are expressed as hazard ratios (HR) with 95% CIs. A two-sided
16 p value of < 0.05 was required for statistical significance. Data were analyzed
17 with SPSS software (19.0, SPSS Inc., Chicago IL, USA).
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27

28 29 **Results**

30
31 During the 9-year study period, 491 patients underwent LT at our institution, 222
32 of them had HCV infection (45%), and 151 (68%) received AVT. Of the 151
33 patients considered for enrollment, 44 were excluded (19 HIV co-infection, 7
34 fibrosing cholestatic hepatitis, 12 HCV genotype other than 1, and 8
35 lacking complete data), yielding a final cohort of 105 patients (**Figure 1**).
36
37

38
39 Baseline data by treatment group are summarized in Table 1. There were 60
40 patients in the ET group and 45 in the DT group. Twenty-four (40%) of the 60
41 ET patients received treatment within a prospective study (15). The groups
42 were similar at baseline except for higher ALT, bilirubin and HCV RNA, lower
43 hemoglobin levels, and smaller percentage of diabetic patients in the ET group.
44
45 Warm ischemia time was also longer in ET patients. The interval between LT
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 and start of AVT was significantly shorter in ET than in DT (3 versus 18 months,
4
5 respectively; $p < 0.001$).

6
7 Prevalences of rs12979860 CC, CT and TT genotypes in recipient samples
8
9 were 33%, 52%, and 15% respectively, whereas in donor samples, genotype
10
11 CC was the most common (47%), followed by genotype CT (45%) and TT (8%)
12
13 ($p = 0.001$).

14
15 When categorized according to treatment group, recipient rs12979860
16
17 genotypes were similarly distributed in the two groups (Table 1). However,
18
19 significantly more patients in the ET group received livers from donors with
20
21 rs12979860 CC genotype (61%), than patients in the DT group (29%)
22
23 ($p = 0.009$).

24 25 26 27 **Treatment outcome**

28
29 There were no differences between groups in the percentage of patients who
30
31 completed treatment, or required erythropoietin, blood transfusion or
32
33 granulocyte colony-stimulating factor, or in the number of rejection episodes or
34
35 de novo autoimmune hepatitis cases. The interval between LT and treatment
36
37 start was longer in patients achieving SVR (**Table 2**).

38
39 A higher percentage of DT patients had depressive symptoms (18% DT versus
40
41 5% ET; $p = 0.05$).

42
43 A similar percentage of patients in both groups achieved RVR and EVR (Table
44
45 1) and there were no differences in the SVR rate (23% ET versus 36% DT;
46
47 $p = 0.2$)

48
49 For the overall cohort, univariate analysis identified the following pre-treatment
50
51 variables as associated with SVR: female recipient ($p = 0.006$), IL28B genotype
52
53 CC ($p = 0.04$), and graft donor younger than 60 years ($p = 0.01$) (Table 2). The on-
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 treatment variables associated with SVR included completing treatment
4 (p<0.001), and achieving an RVR (p=0.001), EVR (p<0.001), and ETR
5 (p<0.001). On multivariate analysis, the fact of achieving an RVR (OR 13.61, CI
6 95% 1.72-107.50, p=0.01) and completing treatment (OR 14.80, CI 95% 2.11-
7 103.85, p=0.007) were the only variables independently associated with SVR.

8
9
10
11
12 In the same analyses by treatment group, completing treatment (p<0.001),
13 achieving an RVR (p=0.007), and achieving an EVR (p<0.001) were associated
14 with SVR in the ET group, whereas completing treatment (p=0.002), achieving
15 an RVR (p=0.04), achieving an EVR (p<0.001), and receiving a graft from a
16 donor older than 60 years (p=0.03), were associated with SVR in the DT group.

24 **Survival analysis**

25
26
27 The study cohort was followed up for a median of 5.8 years (range 0.4-13.5). In
28 the overall cohort, 37 patients (35%) died during follow-up: 24 (65%) due to liver
29 failure after a median of 2.1 years (range 0.4-9.9), 5 (13%) due to HCC
30 recurrence after a median of 1.6 years (range 0.7-7.6), and the remaining 8
31 (22%) due to liver-unrelated causes after a median of 4 years post-LT (range
32 0.5-6.5).
33
34
35
36
37
38
39

40 After a median follow-up of 6.9 years (range 0.4-11) in the ET group and 5.6
41 years (range 1.1-13.5) in the DT group (p=0.9), Kaplan-Meier analysis showed
42 a trend towards shorter survival in the ET group during the first years, but with
43 similar long-term survival in both groups (Log-rank p=0.06) (Figure 2).
44
45
46
47
48
49 Importantly, liver-related mortality was similar in both groups (p=0.8) (Table 3).

50 The variables associated with mortality in the overall cohort included graft donor
51 >60 years old (p=0.02), recipient IL28B genotype TT (p=0.03), pre-treatment
52 bilirubin >2 mg/dL, (p=0.001), premature treatment discontinuation (p=0.001);
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 and failure to achieve EVR ($p=0.001$), ETR ($p=0.001$), and SVR ($p=0.001$)
4
5 (Table 4)

6
7 Multivariate analysis using a Cox regression model (see variables included in
8
9 Table 4) identified the following mortality-related variables: pre-treatment
10
11 bilirubin >2 mg/dL (HR 6.140, CI 95% 2.751-13.701, $p<0.001$), graft donor older
12
13 than 60 years (HR 3.061, 95% CI 1.388-6.750, $p=0.006$), and failure to achieve
14
15 SVR (HR 10.31, CI 95% 1.28-8.33, $p=0.028$) (Figure 3).

16
17 Analysis of mortality-associated variables according to treatment group
18
19 identified pre-treatment bilirubin >2 mg/dL (HR 4.936, 95% CI 1.920-12.687,
20
21 $p=0.001$) and graft donor older than 60 years (HR 3.207, 95% CI 1.287-7.990,
22
23 $p=0.012$) in the ET group, whereas only pre-treatment bilirubin >2 mg/dL (HR
24
25 8.709, 95% CI 1.897-39.977, $p=0.005$) was independently associated with
26
27 mortality in the DT group.
28
29
30
31
32

33 34 **Discussion**

35
36 In most centers, treatment of recurrent HCV is started when chronic hepatitis is
37
38 established and progressive fibrosis has been documented (23). This strategy
39
40 has the advantage of treating when the patient's clinical status after LT is stable
41
42 and the immunosuppression requirement and risk of acute rejection are
43
44 presumably lower. In a previous study (15), however, we found that antiviral
45
46 treatment for recurrent HCV in the acute stage is safe and effective, although
47
48 the limited sample size and comparison with patients who did not receive AVT
49
50 precluded identification of patients who might obtain the most benefit from this
51
52 strategy.
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 In the present study, our expanded experience with early treatment of recurrent
4 HCV is compared with treatment of established chronic HCV recurrence in a
5 large cohort of patients over a decade in time. Our results indicate that the two
6 treatment strategies are similar with regard to tolerability and safety, except for
7 a higher frequency of interferon-related depressive symptoms in patients with
8 established recurrent HCV. Regarding the potential risk of interferon-induced
9 acute rejection (24,25), our results do not support the notion that antiviral
10 therapy in the early phase of recurrence increases the risk of rejection.
11
12

13
14
15
16
17
18
19
20
21 The lower frequency of IL28B CC genotype in the LT recipients than in HCV-
22 negative donors is consistent with the role of the CC variant in spontaneous
23 HCV clearance and sensitivity to interferon; these characteristics would lead to
24 over-representation of non-CC variants in the chronic hepatitis C population
25 (26,27). Although the distribution of recipient IL28B genotypes was similar in
26 both treatment groups, the finding of a higher frequency of CC genotype in
27 grafts transplanted to ET recipients deserves further comment. This finding is
28 consistent with the results of a recent report by Duarte-Rojo et al in patients with
29 post-LT recurrent HCV (28). These authors found faster disease progression in
30 patients who had received a CC donor graft, suggesting that although donor
31 IL28B genotype CC associates with higher SVR rates after antiviral therapy, in
32 the absence of viral eradication, it is associated with poorer outcome and
33 survival. The authors concluded that these patients should be systematically
34 offered antiviral treatment.
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50

51
52 In the present study, the only variables independently associated with SVR
53 were achieving RVR and completing treatment. We found a significantly higher
54 SVR rate in recipients with genotype CC ($p=0.04$), but there was no association
55
56
57
58
59
60

1
2
3 with donor genotype ($p=0.3$). Nonetheless, recipient genotype was not
4 significantly associated with treatment response in the multivariate analysis.
5
6 Similar discrepancies between recipient and donor IL28B genotype and SVR
7 have been reported by others (29,30,31). Although recipient IL28B genotype
8 was not independently associated with treatment response in our study, the
9 limited number of patients and the high number of other variables influencing
10 treatment outcome limit the interpretation of this finding. Further studies are
11 needed to clarify this issue.
12
13

14
15
16 We identified a subgroup of LT recipients with a poor prognosis: patients with
17 pre-treatment bilirubin >2 mg/dL who received a graft from a donor older than
18 60 years, and failed to achieve SVR. Patients identified as being at higher risk
19 of severe recurrence might benefit from early treatment with direct-acting
20 antiviral (DAA) containing regimens (32-37). In this regard, our results and
21 those of others (28) suggest that donor IL28B genotype should be considered a
22 potential prognostic marker for early severe recurrence until further information
23 is obtained.
24
25

26
27
28 Our study has several limitations. First, because of its retrospective nature,
29 decisions on the indication for treatment were made by clinicians on a case-by-
30 case basis. Furthermore, except for the ET patients who had been included in
31 the previous study (15), most patients in this group had clinically more severe
32 recurrent HCV than those in the DT group. Therefore, we were unable to
33 assess the utility of prompt treatment in LT recipients with mild recurrence.
34
35 Nonetheless, the fact that patients were prospectively monitored at a single
36 center by the same physicians according to homogeneous management criteria
37 would likely decrease the impact of potential biases. In addition, due to the
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 observational nature of the study, extrapolation of the results to the liver
4 transplant population at large is difficult. Ideally, an extensive multicenter study
5 comparing DAA-containing treatment given during acute versus established
6 recurrence would allow more accurate treatment guidelines to be developed.
7
8 Finally, we mention that fibrosis was not compared between groups because
9 this factor was absent in patients treated in the acute phase of recurrence, in
10 accordance with the study design.
11
12

13
14
15
16
17
18 In conclusion, early treatment of recurrent HCV in LT recipients is safe and
19 achieves similar rates of viral eradication as deferred treatment. Patients with
20 clinically severe HCV recurrence and those who received a graft from an older
21 donor should be considered candidates for an early, intensive therapeutic
22 intervention to increase HCV eradication and optimize graft and patient survival.
23
24
25
26
27
28
29
30
31

32 **Acknowledgments**

33
34 The authors thank Celine Cavallo for English language support, Anna Oliveira
35 and Angie Rico for technical support, and Esther Delgado for secretarial work.
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

References

1. Gane EJ, Portmann BC, Naoumov NV, Smith HM, Underhill JA, Donaldson PT, et al. Long-term outcome of hepatitis C infection after liver transplantation. *N Engl J Med*. 1996; 334:815-820.
2. Gane EJ. The natural history of recurrent hepatitis C and what influences this. *Liver Transpl*. 2008; 14 Suppl 2:S36-44.
3. Forman LM, Lewis JD, Berlin JA, Feldman HI, Lucey MR. The association between hepatitis C infection and survival after orthotopic liver transplantation. *Gastroenterology*. 2002;122:889-896
4. Berenguer M, Ferrell L, Watson J, Prieto M, Kim M, Rayon M, et al. HCV-related fibrosis progression following liver transplantation: increase in recent years. *J Hepatol* 2000; 32: 673–684.
5. Berenguer M, Prieto M, Rayo'n JM, Mora J, Pastor M, Ortiz V, et al. Natural history of clinically compensated HCV-related graft cirrosis after liver transplantation. *Hepatology* 2000; 32: 852–858.
6. Schluger LK, Sheiner PA, Thung SN, Lau JY, Min A, Wolf DC, et al. Severe recurrent cholestatic hepatitis C following orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 1996; 23: 971–976.
7. Neumann UP, Berg T, Bahra M, Seehofer D, Langrehr JM, Neuhaus R, et al. Fibrosis progression after liver transplantation in patients with recurrent hepatitis C. *J Hepatol* 2004;41: 830-836.
8. Samuel D, Bizollon T, Feray C, Roche B, Ahmed SNS, Lemonnier C, et al. Interferon-a 2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C after liver transplantation: a randomized study. *Gastroenterology* 2003; 124: 642–650.

- 1
2
3 9. Neff GW, Montalbano M, O'Brien CB, Nishida S, Safdar K, Bejarano PA,
4
5 et al. Treatment of established recurrent hepatitis C in liver-transplant
6
7 recipients with pegylated interferon-alfa-2b and ribavirin therapy.
8
9 Transplantation 2004; 78:1303–1307.
10
- 11 10. Berenguer M, Charco R, Pascasio JM, Herrero JI. Spanish society of
12
13 liver transplantation (SETH) consensus recommendations on hepatitis C
14
15 virus and liver transplantation. Liver Int. 2012; 32: 712-731.
16
17
- 18 11. Carrion JA, Navasa M, García-Retortillo M, García-Pagan JC, Crespo G,
19
20 Bruguera M, et al. Efficacy of antiviral therapy on hepatitis C recurrence
21
22 after liver transplantation: a randomized controlled study.
23
24 Gastroenterology. 2007 May; 132:1746-1756.
25
26
- 27 12. Berenguer M. Systematic review of the treatment of established recurrent
28
29 hepatitis C with pegylated interferon in combination with ribavirin. J
30
31 Hepatol. 2008; 49:274-287.
32
33
- 34 13. Berenguer M, Palau A, Aguilera V, Rayón JM, Juan FS, Prieto M. Clinical
35
36 benefits of antiviral therapy in patients with recurrent hepatitis C following
37
38 liver transplantation. Am J Transplant. 2008; 8:679-687.
39
40
- 41 14. Berenguer M, Aguilera V, Prieto M, Ortiz C, Rodríguez M, Gentili F,
42
43 Rialde B, Rubin A, Cañada R, Palau A, Rayón JM. Worse recent
44
45 efficacy of antiviral therapy in liver transplant recipients with recurrent
46
47 hepatitis C: impact of donor age and baseline cirrhosis. Liver Transpl.
48
49 2009; 15:738-46.
50
51
- 52 15. Castells L, Vargas V, Allende H, Bilbao I, Luis LJ, Margarit C, et al.
53
54 Combined treatment with pegylated interferon (a-2b) and ribavirin in the
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3 acute phase of hepatitis C virus recurrence after liver transplantation. *J*
4 *Hepatol* 2005; 43: 53–59.
5
6
7 16. Zimmermann T, Böcher WO, Biesterfeld S, Zimmermann A, Kanzler S,
8 Greif-Higer G, et al. Efficacy of an escalating dose regimen of pegylated
9 interferon alpha-2a plus ribavirin in the early phase of HCV reinfection
10 after liver transplantation. *Transpl Int*. 2007;20:583-590.
11
12
13
14
15
16 17. Von Elm E, Altman DG, Egger M, et al. STROBE Initiative. The
17 Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology
18 (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies.
19 *Lancet* 2007; 370:1453-1457. (www.strobe-statement.org).
20
21
22
23
24
25 18. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De GJ, Gudat F, et al.
26 Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995;
27 22:696–699.
28
29
30
31
32 19. Margarit C, Bilbao I, Castells L, Lopez I, Pou L, Allende E, Escartin A. A
33 prospective randomized trial comparing tacrolimus and steroids with
34 tacrolimus monotherapy in liver transplantation: the impact on recurrence
35 of hepatitis C. *Transpl Int*. 2005; 18:1336-45.
36
37
38
39
40
41 20. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB; American Association for
42 the Study of Liver Diseases. Diagnosis, management, and treatment of
43 hepatitis C: an update. *Hepatology*. 2009; 49:1335-1374.
44
45
46
47 21. McCarthy JJ, Li JH, Thompson A, Suchindran S, Lao XQ, Patel K, et al.
48 Replicated association between an IL28B gene variant and a sustained
49 response to pegylated interferon and ribavirin. *Gastroenterology*. 2010;
50 138:2307-2314.
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
22. Montes-Cano MA, García-Lozano JR, Abad-Molina C, Romero-Gómez M, Barroso N, Aguilar-Reina J, et al. Interleukin-28B genetic variants and hepatitis virus infection by different viral genotypes. *Hepatology*. 2010; 52:33-37.
23. Berenguer M, Aguilera V, Rubín A, Ortíz C, Jimenez M, Prieto M. Comparison of two non-contemporaneous HCV-liver transplant cohorts: Strategies to improve the efficacy of antiviral therapy. *J Hepatol*. 2012; 56:1310-1316.
24. Samuel D. Hepatitis C, interferon, and risk of rejection after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2004;10:868-871.
25. Saab S, Kalmaz D, Gajjar NA, Hiatt J, Durazo F, Han S, et al. Outcomes of acute rejection after interferon therapy in liver transplant recipients. *Liver Transpl*. 2004;10:859-867.
26. Thomas DL, Thio CL, Martin MP, Qi Y, Ge D, O'Huigin C, et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature*. 2009;461:798-801.
27. Bes M, Sauleda S, Campos-Varela I, Rodríguez-Frías F, Casamitjana N, Homs M, et al. IL28B genetic variation and hepatitis C virus specific CD4 T cell response in anti-HCV positive blood donors. *J Viral Hepat*. 2012;19: 867-871.
28. Duarte-Rojo A, Veldt BJ, Goldstein DD, Tillman HL, Watt KD, Heimbach JK, et al. The Course of Posttransplant Hepatitis C Infection: Comparative Impact of Donor and Recipient Source of the Favorable IL28B Genotype and Other Variables. *Transplantation*. 2012; 94:197-203.

- 1
2
3 29. Charlton MR, Thompson A, Veldt BJ, Watt K, Tillmann H, Poterucha JJ,
4 et al. Interleukin-28B polymorphisms are associated with histological
5 recurrence and treatment response following liver transplantation in
6 patients with hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 2011; 53:317-324.
7
8
9
10
11 30. Coto-Llerena M, Pérez-Del-Pulgar S, Crespo G, Carrión JA, Martínez
12 SM, Sánchez-Tapias JM, et al. Donor and recipient IL28B
13 polymorphisms in HCV-infected patients undergoing antiviral therapy
14 before and after liver transplantation. *Am J Transplant*. 2011; 11:1051-
15 1057.
16
17
18
19
20
21
22 31. Lange CM, Moradpour D, Doehring A, Lehr HA, Müllhaupt B, Bibert S, et
23 al. Impact of donor and recipient IL28B rs12979860 genotypes on
24 hepatitis C virus liver graft reinfection. *J Hepatol*. 2011; 55:322-327.
25
26
27
28
29 32. Poordad F, McCone J Jr, Bacon BR, Bruno S, Manns MP, Sulkowski
30 MS, et al. SPRINT-2 Investigators. Boceprevir for untreated chronic HCV
31 genotype 1 infection. *N Engl J Med*. 2011; 364:1195-1206.
32
33
34
35
36 33. Zeuzem S, Andreone P, Pol S, Lawitz E, Diago M, Roberts S, ET al;
37 REALIZE Study Team. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N*
38 *Engl J Med*. 2011;364:2417-2428.
39
40
41
42 34. Fontana RJ, Hughes EA, Appelman H, Hindes R, Dimitrova D, Bifano M.
43 Case report of successful peginterferon, ribavirin, and daclatasvir therapy
44 for recurrent cholestatic hepatitis C after liver retransplantation. *Liver*
45 *Transpl*. 2012; 18:1053-1059.
46
47
48
49
50
51 35. Roche B, Samuel D. Hepatitis C virus treatment pre- and post-liver
52 transplantation. *Liver Int*. 2012; 32 Suppl 1:120-128.
53
54
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3 36. Werner CR, Egetemeyr DP, Lauer UM, Nadalin S, Königsrainer A, Malek
4 NP, et al. Short report: Telaprevir-based triple therapy in liver
5 transplanted HCV patients: A 12 week pilot study providing safety and
6 efficacy. Liver Transpl. 2012 Sep 1.
7
8
9
10
11 37. Coilly A, Roche B, Botta-Fridlund D, Leroy V, Pageaux PG, Si-Ahmed
12 SN, et al. Efficacy and safety of protease inhibitors for severe hepatitis C
13 recurrence after liver transplantation: A first multicentric experience.
14 Journal of Hepatology 2012 (56), S21.
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Figure Legends

Figure 1. Flow chart of LT patients in our hospital between 2001-2010 and selection of the study cohort.

Figure 2. Kaplan-Meier analysis showing patient survival according to the time of treatment. Log-rank ($p=0.07$). Median follow-up time; Early Treatment: 6.9 years (range 0.4-11), Deferred Treatment: 5.6 years (range 1.1-13.5), ($p=0.7$).

Figure 3. Survival curves of significant variables according to a multivariate Cox regression model.

Table 1. Baseline and on-treatment characteristics of the study cohort according to the time of treatment

Patient Characteristics	Early Treatment n=62 (58%)	Deferred Treatment n=45 (42%)	p value
Recipient sex (M/F), n (%)	43 (69)/19 (31)	29 (64)/16 (36)	0.6
Recipient age, years*	58 (35-68)	59 (28-68)	0.5
Donor age, years*	58 (14-81)	59 (17-81)	0.4
Donor age >60 years, n (%)	24 (39)	18 (40)	0.9
Diabetes, n (%)	7 (11)	15 (35)	0.003
Alanine aminotransferase, IU/mL*	242 (27-987)	179 (21-878)	0.03
Bilirubin mg/dL*	2 (0.3-26)	1 (0.3-31)	<0.001
Hemoglobin, g/dL*	12.1 (9.2-15)	13 (10-16)	0.01
Leukocytes (X10 ⁹ /L)*	3.9 (2.1-10.4)	4.6(1.8-10.7)	0.2
Platelets (X10 ⁹ /L)*	143 (43-333)	138 (54-280)	0.9
Creatinine, mg/dL*	1.1 (0.7-2.5)	1 (0.7-2.8)	0.6
Pre-LT MELD score*	14 (6-37)	14 (6-40)	0.6
Pre-LT viral load, log ₁₀ IU/mL*	5.7 (3.0-7.1)	5.9 (3.5-6.8)	0.5
Pre-treatment viral load, log ₁₀ IU/mL*	6.7 (4.9-8.2)	6.5 (3.8-7.5)	0.04
Pre-LT P-IFN treatment, n (%)	15 (24)	17 (39)	0.1
Recipient IL28B genotype, n (%)			
CC	21 (34)	14 (31)	0.5
CT	30 (48)	26 (58)	
TT	11 (18)	5 (11)	
Donor IL28B genotype, n (%) [‡]			
CC	37 (62)	11 (29)	0.007
CT	20 (33)	24 (63)	
TT	3 (5)	3 (8)	
R-CC/D-CC, n (%) [‡]	11 (18)	4 (11)	0.3
R-CC/D-nonCC, n (%) [‡]	10 (17)	8 (21)	0.6
R-nonCC/D-CC, n (%) [‡]	26 (43)	7 (18)	0.01
R-nonCC/D-nonCC, n (%) [‡]	13 (22)	19 (50)	0.004
Immunosuppression, n (%)			
Tacrolimus-based	59 (95)	39 (87)	0.1
Cyclosporine-based	3 (5)	6 (14)	
IS including MMF, n (%)	11 (18)	11 (24)	0.4

Ischemia time, min*	375 (190-700)	365 (175-510)	0.2
Warm ischemia time, min*	45 (15-87)	40 (25-60)	0.003
Interval between LT-AVT, months*	3 (1-12)	18 (11-74)	<0.001
Completing treatment, n (%)	31 (50)	22 (50)	1
Erythropoietin, n (%)	45 (73)	27 (60)	0.2
Transfusion, n (%)	13 (21)	12 (27)	0.5
Granulocyte colony-stimulating, n (%)	17 (28)	12 (27)	0.9
Thrombocytopenia (<100X10 ⁹ /L), n (%)	31 (52)	27 (60)	0.4
Rejection episodes, n (%)	6 (10)	6 (13)	0.6
Autoimmune hepatitis, n (%)	2 (3)	3 (7)	0.6
Depressive syndrome, n (%)	3 (5)	8 (18)	0.05
Cytomegalovirus infection, n (%)	12 (19)	5 (11)	0.3
RVR, n (%)	7 (11)	5 (11)	1
EVR, n (%)	30 (48)	30 (67)	0.06
ETR, n (%)	26 (43)	21 (50)	0.5
SVR, n (%)	15 (24)	16 (36)	0.2

*Median (range)

‡In 98 donors performed

AVT: Antiviral treatment; D-CC/non-CC: Donor IL28B genotype CC/non-CC; ETR: End of treatment response; EVR: Early of treatment response; IS: Immunosuppression; MELD: model for end-stage liver disease; MMF: Mycophenolate mofetil; P-IFN: Pegylated-Interferon; R-CC/non-CC: Recipient IL28B genotype CC/non-CC; RVR: Rapid virological response; SVR: Sustained virological response

Table 2. Baseline and on-treatment characteristics of the study cohort according to sustained virological response.

Patients Characteristic	SVR n=31 (29%)	Non SVR n=76 (71%)	p value
Recipient sex (M/F), n (%)	15 (48)/ 16 (52)	57 (75)/ 19 (25)	0.008
Recipient age, years*	61 (28-68)	59 (35-68)	0.8
Donor age < 60 years, n (%)	25 (81)	40 (53)	0.007
Diabetes, (%)	4 (13)	18 (24)	0.2
Alanine aminotransferase, IU/mL*	211 (48-905)	187 (21-938)	0.5
Bilirubin >2 mg/dL, n (%)	9 (30)	24 (33)	0.7
Hemoglobin, g/dL*	13 (10-15)	12.5 (9.2-16)	0.5
Leukocytes (X10 ⁹ /L)*	4.0 (2.1-8.6)	4.7 (1.8-10.7)	0.6
Platelets (X10 ⁹ /L)*	143 (57-255)	129 (54-333)	0.3
Creatinine, mg/dL*	1 (0.7-1.4)	1 (0.7-2.8)	0.8
Pretransplant viral load, log IU/mL*	5.6 (3.3-7.1)	5.9 (3.0-6.8)	0.2
Pretreatment viral load, log IU/mL*	6.5 (3.8-8.2)	6.7 (4.9-8.1)	0.1
Pre-LT P-IFN-Treatment, n(%)	7 (23)	25 (33)	0.3
Recipients IL28B genotype, n (%)			
CC	13 (42)	22 (29)	0.04
CT	17 (55)	39 (51)	
TT	1 (3)	15 (20)	
Donors IL28B genotype, n (%) [‡]			
CC	15 (53)	33 (47)	0.3
CT	10 (36)	34 (49)	
TT	3 (11)	3 (4)	
R-CC/D-CC, n (%) [‡]	5 (18)	10 (14)	0.8
R-CC/D-nonCC, n (%) [‡]	6 (21)	12(17)	0.6
R-nonCC/D-CC, n (%) [‡]	10 (36)	23 (33)	0.8
R-nonCC/D-nonCC, n (%) [‡]	7 (25)	25 (36)	0.3
Immunosuppression, n (%)			
Tacrolimus-based	27 (87)	71 (93)	0.3
Cyclosporine-based	4 (13)	5 (7)	
IS including MMF, n (%)	8 (26)	14 (18)	0.4
Interval between LT-AVT, months*	11 (1-53)	4 (1-74)	0.02
Ischemia time, min*	360 (175-515)	370 (220-700)	0.3
Warm ischemia time, min*	40 (15-70)	43 (20-87)	0.2
Pre-LT MELD*	13 (6-40)	15 (6-39)	0.5

Completing treatment, n (%)	28 (90)	25 (33)	<0.001
Erythropoietin, n (%)	23 (74)	49 (64)	0.3
Transfusion, n (%)	8 (26)	17 (22)	0.7
Granulocyte colony-stimulating, n (%)	9 (29)	20 (27)	0.8
Thrombocytopenia (<100X10 ⁹ /L), n (%)	14 (45)	44 (59)	0.2
Cytomegalovirus infection, n (%)	2 (6)	15 (20)	0.09
Rejection episodes, n (%)	2 (6)	7 (9)	0.3
Autoimmune hepatitis, n (%)	2 (6)	3 (4)	0.6
Depressive syndrome, n (%)	4 (13)	7 (9)	0.6
RVR, n (%)	9 (29)	3 (4)	0.001
EVR, n (%)	31 (100)	29 (38)	<0.001
ETR, n (%)	31 (100)	16 (22)	<0.001

*Median (range)

‡In 98 donors performed

AVT: Antiviral treatment; D-CC/non-CC: Donor IL28B genotype CC/non-CC; ETR: End of treatment response; EVR: Early of treatment response; IS: Immunosuppression; MELD: model for end-stage liver disease; MMF: Mycophenolate mofetil; P-IFN: Pegylated-Interferon; R-CC/non-CC: Recipient IL28B genotype CC/non-CC; RVR: Rapid virological response

Table 3. Causes of mortality.

	Early Treatment n=27	Deferred Treatment n=10	p value
Hepatic failure	17	7	0.8
HCC recurrence	4	1	
Others	6	2	
	Malignancy Malignancy Sepsis Sepsis Others	Sepsis Sepsis	

HCC: Hepatocellular carcinoma

Table 4. Baseline and on-treatment characteristics of the study cohort of 107 patients according to mortality.

Patients Characteristic	Survivors n=70 (65%)	Deaths n=37 (35%)	p value
Recipient sex (M/F), n (%)	45 (64)/25 (36)	27 (73)/10 (85)	0.4
Age, years *	61 (28-68)	57 (35-68)	0.09
Donor age >60 years, n (%)	21 (30)	21 (57)	0.007
Diabetes, n (%)	11 (16)	11 (30)	0.09
Alanine aminotransferase, IU/mL*	194 (21-987)	218 (27-720)	0.8
Bilirubin >2 mg/dL, n (%)	18 (22)	15 (54)	0.001
Hemoglobin, g/dL *	12.9 (9.2-16)	12 (10-15)	0.1
Leukocytes (X10 ⁹ /L) *	4.4 (2.1-8.6)	4.2 (1.8-10.7)	0.9
Platelets (X10 ⁹ /L) *	139 (57-333)	143 (43-280)	1
Creatinine, mg/dL*	1.1 (0.7-2.8)	1 (0.7-2.5)	0.4
Pretransplant viral load, log IU/mL*	5.9 (3-6.5)	5.8 (3.6-7.1)	0.4
Pretreatment viral load, log IU/mL*	6.7 (3.8-8.2)	6.6 (4.9-8)	0.8
Pre-LT P-IFN-Treatment, n (%)	19 (27)	30 (35)	0.4
Recipients IL28B genotype, n (%)			
CC	26 (37)	9 (24)	0.03
CT	38 (54)	18 (49)	
TT	6 (9)	10 (27)	
Donors IL28B genotype, n (%) ‡			
CC	32 (49)	16 (48)	0.6
CT	28 (43)	16 (49)	
TT	5 (8)	1 (3)	
R-CC/D-CC, n (%)‡	10 (15)	5 (15)	0.9
R-CC/D-nonCC, n (%)‡	14 (21)	4 (12)	0.2
R-nonCC/D-CC, n (%)‡	22 (34)	11 (33)	0.9
R-nonCC/D-nonCC, n (%)‡	19 (29)	13 (39)	0.3
Immunosuppression, n (%)			
Tacrolimus based	64 (91)	34 (92)	0.9
Cyclosporine based	6 (9)	3 (8)	
IS including MMF, n (%)	17 (23)	5 (13)	0.2
Interval between LT-AVT, months*	10 (1-74)	4 (1-35)	0.008
Ischemia time, min*	372 (175-700)	362 (220-570)	0.9
Warm ischemia time, min*	40 (15-74)	43 (20-87)	0.6
Pre-LT MELD*	14 (6-40)	15 (6-40)	0.8

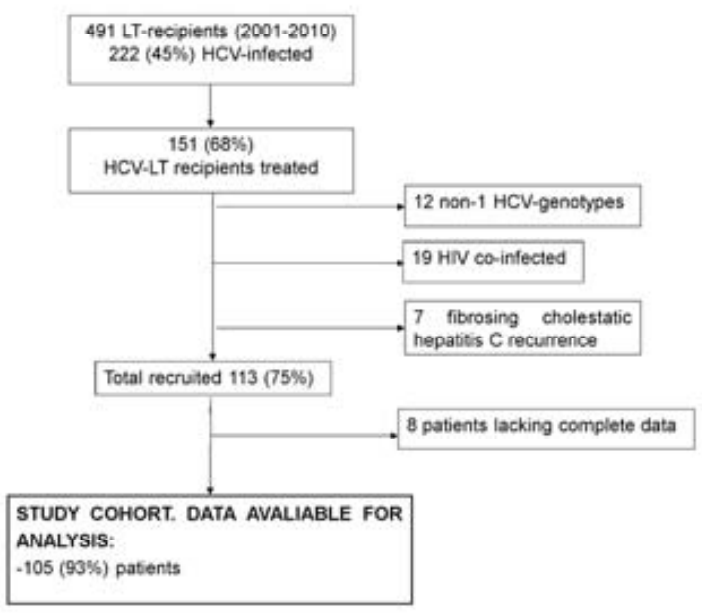
Completing treatment, n (%)	43 (62)	10 (27)	0.001
Erythropoietin, n (%)	48 (69)	24 (65)	0.7
Transfusion, n (%)	16 (23)	9 (24)	0.9
Granulocyte colony-stimulating, n (%)	20 (29)	9 (25)	0.8
Thrombocytopenia (<100X10 ⁹ /L), n (%)	41 (59)	17 (49)	0.3
Cytomegalovirus infection, n (%)	10 (14)	7 (19)	0.5
Rejection episodes, n (%)	8 (11)	4 (11)	1
Autoimmune hepatitis, n (%)	4 (6)	1 (3)	0.5
Depressive syndrome, n (%)	8 (11)	3 (8)	0.6
RVR, n (%)	9 (13)	3 (8)	0.5
EVR, n (%)	48 (69)	12 (32)	<0.001
ETR, n (%)	39 (57)	8 (23)	0.001
SVR, n (%)	29 (41)	2 (5)	<0.001

*Median (range)

*In 98 donors performed

AVT: Antiviral treatment; D-CC/non-CC: Donor IL28B genotype CC/non-CC; ETR: End of treatment response; EVR: Early of treatment response; IS: Immunosuppression; MELD: model for end-stage liver disease; MMF: Mycophenolate mofetil; P-IFN: Pegylated-Interferon; R-CC/non-CC: Recipient IL28B genotype CC/non-CC; RVR: Rapid virological response; SVR: Sustained virological response

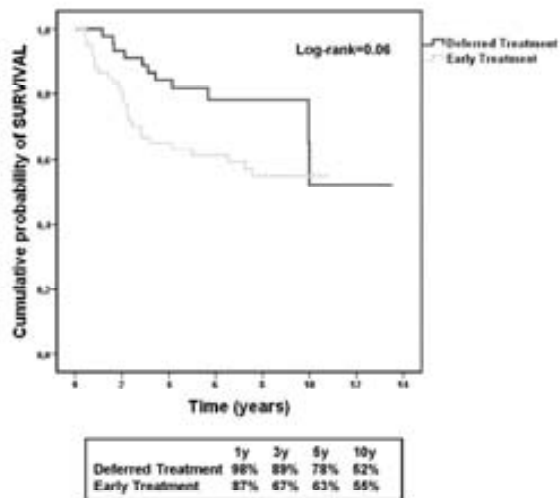
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



Flow chart of LT patients in our hospital between 2001-2010 and selection of the study cohort.
297x210mm (200 x 200 DPI)

Review

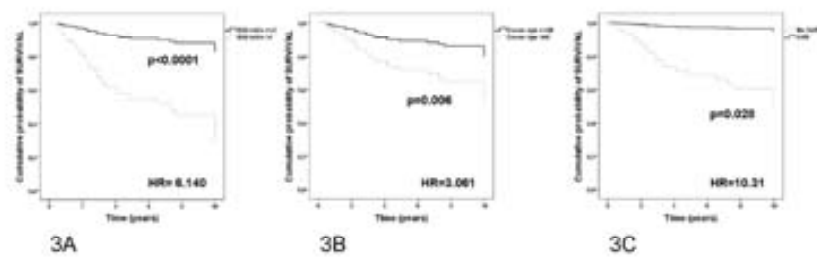
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



Kaplan-Meier analysis showing patient survival according to the time of treatment. Log-rank ($p=0.07$). Median follow-up time; Early Treatment: 6.9 years (range 0.4-11), Deferred Treatment: 5.6 years (range 1.1-13.5), ($p=0.7$).
297x210mm (200 x 200 DPI)

Review

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



Survival curves of significant variables according to a multivariate Cox regression model.
297x210mm (200 x 200 DPI)

Review

IV. Estudio 2

Estudio 2. Predictores precoces de respuesta al tratamiento antiviral de la recurrencia de la infección por VHC en pacientes receptores de trasplante hepático

1. Resumen de la hipótesis, objetivo, procedimientos y resultados globales del estudio

Introducción

Se han realizado importantes avances con los estudios sobre las características del donante (33) y del receptor de TH por VHC y su influencia en la respuesta al tratamiento antiviral (32,46-49,63,85,94,97). Sin embargo, no se ha podido generalizar hasta la actualidad ningún algoritmo que permita combinar estas variables y diferenciar de forma segura y precoz a los pacientes respondedores de los no respondedores (32). En el momento actual en el que disponemos de variables ampliamente estudiadas como son la cinética viral y las características del donante y receptor y recientemente de los polimorfismos del gen de la IL28B (6,7,61-63) se abre la posibilidad de buscar herramientas más potentes que nos conduzcan a establecer algoritmos robustos que permitan tomar decisiones en la práctica clínica diaria (92- 94).

Hipótesis

Los estudios sobre variables pronósticas de respuesta al tratamiento antiviral no son suficientemente discriminativos en pacientes trasplantados hepáticos con recurrencia de la infección por VHC.

Objetivo

Elaborar, a través de un análisis multivariado mediante regresión logística, un modelo pronóstico para discriminar de manera precisa los pacientes con pocas posibilidades de responder al tratamiento antiviral.

Pacientes y métodos

-Se diseñó un estudio retrospectivo, observacional, de pacientes seguidos de forma prospectiva tratados con Peg-IFN- α y RBV tras la recurrencia de la infección por VHC después del TH.

-Se utilizó una cohorte pacientes trasplantados hepáticos por VHC entre 2001 y 2010 Hospital Universitari Vall d'Hebrón.

- Se realizó un análisis de regresión logística jerárquica y exhaustiva, en la que primero se generaban todos los modelos pronósticos posibles a partir de una serie de variables pronósticas relevantes, y después se clasificaban según su capacidad discriminativa. El mejor modelo se utilizó entonces para elaborar una tabla con las estimaciones de la probabilidad de alcanzar la RVS según las distintas combinaciones de las variables identificadas.

Resultados

1. En el estudio se incluyeron 107 pacientes. Treinta y un pacientes (29%) alcanzaron una RVS. Las variables asociadas con la RVS en el análisis univariado fueron; el género, 16/35 (46%) eran mujeres frente a 15/72 (21%) hombres ($p=0,008$), la edad del donante 49 años (rango 14-81) vs 59 años (rango 15-81) ($p=0,03$) o recibir un injerto de un donante < 60 años 25/65 (38%) vs > 60 años 6/42 (14%), ($p= 0,007$), genotipo de la IL28B del receptor CC 13/35 (37%), CT 17/46 (30%), TT 1/16 (6%) ($p=0,04$), completar el tratamiento 28/53 (53%) vs 3/53 (6%) ($p<0,001$), alcanzar la RVR 9/12 (75%) vs 22/95 (23%), ($p=0,001$), el descenso de 3 log en la semana 4 de tratamiento antiviral 17/19 (89%) vs 9/70 (13%), $p<0,001$, y alcanzar la RVP 31/60 (52%) vs 0/47 (0%), ($p<0,001$).
2. El mejor modelo identificado mediante la estrategia de regresión logística, a partir de la cohorte de 107 pacientes, incluyendo todas las variables excepto las acontecidas a partir del primer mes de tratamiento antiviral, incluía como variables asociadas a la RVS, la edad del donante > 60 años (si/no), genotipo de la IL28B (CC/CT/TT) del donante y alcanzar la RVR (si/no) (Tabla 2). A partir de este modelo se calcularon las probabilidades estimadas de alcanzar la RVS asociadas a las diferentes combinaciones de dichas variables (Tabla 3).

Tabla 2. Mejor modelo de regresión logística para predecir la RVS derivado de la cohorte de 107 pacientes que recibieron tratamiento antiviral. La evaluación de las variables edad del donante >60 años (si/no), RVR y Receptor IL28B (CC/CT/TT) se dan para comparar

	AUC	Se %	Sp %	-2LL
Edad donante>60 años (si/no),Receptor IL28B(CC/CT/TT),RVR (si/no)	0.781	26	96	103.2
Edad donante >60 años (si/no), Género (v/m), RVR (si/no)	0.779	22	97	104.0
Edad del receptor, Edad donante >60 años (si/no), RVR (si/no)	0.771	29	97	103.9
Bilirubin (mg/dL) >2 (si/ no), Edad donante >60 años (si/no), RVR (si/no)	0.767	30	96	103.8
Género (v/m),, Receptor IL28B , RVR (si/no)	0.765	26	96	105.0
Diabetes (si/no) , Edad donante >60 años (si/no), RVR (si/no)	0.750	23	96	107.5
Edad donante >60 años (si/no)	0.640	0	100	121.1
RVR (si/no)	0.625	29	96	116.3
Receptor IL28B (CC/CT/TT)	0.611	0	100	122.4

El modelo final está resaltado.

AUC, Área bajo la curva ROC; Se, Sensibilidad; Sp, Especificidad; -2LL, reducción del logaritmo de la razón de verosimilitud.

La fórmula del indicador pronóstico derivada del mejor modelo fue: $[1.468 \times [\text{Edad donante } >60 \text{ años (si/no)}]] + [0.062 \times \text{Receptor IL28B CT (0/1)}] + [-2.107 \times \text{Receptor IL28B TT (0/1)}] + [2.521 \times \text{RVR (0/1)}] - 2.085$.

Tabla 3. *Pocket chart* mostrando las probabilidades estimadas de alcanzar la Respuesta Viral Sostenida para las diferentes combinaciones de variables del mejor modelo pronóstico obtenido mediante el análisis de regresión logística

Receptor IL28B	RVR	Edad del donante	RVS Probabilidad (%)
CC	Si	< 60 años	87
		> 60 años	61
	No	< 60 años	39
		> 60 años	13
CT	Si	< 60 años	84
		> 60 años	55
	No	< 60 años	33
		> 60 years	11
TT	Si	< 60 años	61
		> 60 años	27
	No	< 60 años	13
		> 60 años	4

RVR, respuesta viral rápida; RVS, respuesta viral sostenida.

Title: Early Predictors of Antiviral Treatment Response in Liver Transplant Recipients with Recurrent Hepatitis C.

Authors: Isabel Campos-Varela^{1,6}, Juan Ignacio Esteban^{1,6}, Marta Bes^{2,6}, Ramón Charco³, Helena Allende⁴, Francisco Rodríguez-Frías^{5,6}, Silvia Sauleda^{2,6}, Jaime Guardia^{1,6}, Rafael Esteban^{1,6}, Lluís Castells^{1,6}

¹Liver Unit, Department of Internal Medicine, ²Transfusion Safety Laboratory, Banc de Sang i Teixits (BST), ³Liver Transplant Unit, Department of HPB-Surgery and Transplant, ⁴Pathology Department, ⁵Biochemistry Department. Hospital Universitari Vall d'Hebron, Institut de Recerca (VHIR), Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona, Spain. ⁶Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

Key words: prognosis factors, antiviral treatment, hepatitis C virus, liver transplant, sustained virologic response, prognostic analysis, risk stratification.

Address reprint requests to: Lluís Castells
Liver Unit, Department of Internal Medicine
Hospital Universitario Vall d' Hebron
Passeig Vall d'Hebrón 119-129

08035 Barcelona, Spain
Tel: 34.93.274.61.40
FAX: 34.93.274.60.68
E-mail: lcastells@vhebron.net

Abbreviations: HCV, hepatitis C virus; AVT, antiviral treatment; LT, liver transplantation; SVR, sustained virological response; RVR, rapid virological response;

AUC, Area Under the receiver operating characteristic Curve; EVR, early virological response; SNPs, single nucleotide polymorphisms; IL28B, Interleukin 28B; Fk, tacrolimus; MMF, mycophenotate mofetil; PCR, polymerase chain reaction; ETR, end – of-treatment response; -2LL, reduction of the Logarithm of the Likelihood ratio; ROC, Receiver Operating Characteristic curve; HIV, human immunodeficiency virus; CMV, cytomegalovirus; G-CSF, granulocyte colony-stimulating factor; MELD, model of end-stage liver disease

Financial Support: Isabel Campos-Varela is a recipient of a 'Río Hortega' fellowship grant from the Instituto de Salud Carlos III, and is enrolled in the postgraduate program of the Universitat Autònoma de Barcelona. CIBERehd is supported by Instituto de Salud Carlos III. This work has been partially supported by a grant (PI10/01505) from the Spanish Ministry of Health.

Conflict of interest disclosure: There are no commercial affiliations or consultancies of any author that could be construed as a conflict of interest with respect to the submitted data.

Abstract

Background&Aims: The efficacy of hepatitis C virus (HCV) antiviral treatment (AVT) after liver transplantation (LT) is not optimal. The effectiveness of currently standard therapy for different risk subgroups and the validity of available prognosis factors in clinical practice are poorly understood.

Patients&Methods: Consecutive HCV-LT patients receiving AVT between 2001 and 2010 were retrospectively categorized according to baseline and early predictors of SVR, including recipient *rs12979860* genotype. A multivariate analysis was conducted to elaborate a new prognostic classification rule applicable to a real-life-situation.

Results: The study cohort comprised 107 patients; sustained virological response (SVR) was achieved in 31 patients (29%). In patients with CC genotype, not achieving rapid virological response (RVR), donor age becomes a determining factor for achieving SVR (39% vs 13%, $p=0.02$). The best predictive model included donor age, recipient IL28B genotype and RVR.

Conclusion: The use of a simple combination of baseline and early variables identifies HCV-LT patients with different probabilities of achieving SVR, allowing to a rationale use of standard and new AVT with the development of new approaches.

Introduction

Cirrhosis secondary to hepatitis C virus (HCV) has become the most common indication for liver transplantation (LT). Graft reinfection is universal [1,2] and progression to graft cirrhosis occurs in 10% to 30% of patients at 5 to 7 years following the procedure, conferring a high risk of decompensation and poor survival [3-7]. Management of chronic hepatitis C in LT recipients with recurrent infection has improved significantly during the past decade, and treatment with pegylated interferon in combination with ribavirin is associated with viral response in 30% to 50% of patients [8-13]. Several factors have been identified and have shown to be associated with sustained virological response (SVR) rates, but this still remains a field of study [14, 15]. On treatment viral decline at week 4 (rapid virological response (RVR)) and week 12 (early virological response (EVR)) [16-20] have been identified as predictors in non-LT chronic HCV patients, but less studies have been published in the LT setting [21,22], where donor characteristics and interaction between donor and recipient deserves special attention [23-25].

Recently, single nucleotide polymorphisms (SNPs) around Interleukin 28B (IL28B) gene have been described as strongly associated with treatment outcomes in genotype-1 HCV infected patients, in transplant and non-LT patients [26-31], adding a new tool in the prognosis and management of these patients.

The understanding of factors that predict treatment outcome is important in order to improve its efficacy and tolerability and to optimize the use of resources, with and early identification of non-responders, allows to develop new treatment approaches.

The aim of this study was to identify baseline and early on-treatment factors associated with SVR, to propose a classification rule for identification of patients with low response probability, and therefore at high risk of decompensation.

Patients and Methods

STROBE recommendations for reporting observational studies [32] were applied for the manuscript design. The study was approved by the ethics committee of our institution and all patients gave written informed consent.

Cohort recruitment and data collection.

We reviewed the medical records of all consecutive adult patients who had undergone LT at Hospital Universitari Vall d'Hebrón, a third-level teaching hospital in Barcelona (Spain), between 2001 and 2010. The patient data was retrieved from a regularly updated database designed to assess the long-term outcome of LT. The data collection protocol was designed before recruitment of the cohort. For each patient, the baseline data was recorded at antiviral treatment beginning by the team at charge of the patient, and data on treatments and outcomes were recorded as occurring during follow-up by outpatient visit. Prospectively collected data were retrospectively analyzed.

Study design. This is a retrospective, observational study of prospectively monitored patients receiving AVT for recurrent HCV following LT. The aim was elaborating a generalizable, and easy-to-use classification rule to identify patients with low probabilities to achieve SVR that could be applied in the first month of AVT.

Recurrent hepatitis C was established on the presence of histological features of lobulillar hepatitis (lobular and portal inflammation) or chronic active hepatitis in patients with detectable HCV-RNA. Patients were included if they complied with follow-up schedule to undergo viral measurements at baseline, week 4 and week 12. Patients with genotype non-1, human immunodeficiency virus co-infection or fibrosing-cholestatic-hepatitis were excluded.

Immunosuppression. In 2004, the immunosuppression protocol for HCV-infected LT recipients at our center was changed from tacrolimus (Fk) (Prograf, Astellas Pharma GmbH, Munich, Germany) plus steroids to Fk plus mycophenolate mofetil (MMF) (CellCept, Roche Pharmaceuticals Inc, NJ, USA) with or without low-dose steroid therapy when required, as reported (19). Fk was started at standard doses and

adjusted to achieve a 10-15 ng/mL blood trough level during the first weeks. MMF was started at 1-2 g/day, depending on white blood cell count. Methylprednisolone (when indicated) was administered daily, starting at 20-mg doses and slowly tapering over the ensuing 6 months. Patients with pre-transplant serum creatinine >1.5 mg/dL were initially given basiliximab (Simulect, Novartis Pharma AG, Basel, Switzerland), plus MMF and steroids, with subsequent introduction of low-dose Fk. Everolimus (Certican, Novartis Pharma AG, Basel, Switzerland), when indicated (renal insufficiency and/or rejection), was permitted at 4 to 6 months after surgery, either alone or in combination with calcineurin inhibitors or MMF. Tacrolimus was switched to cyclosporine (Sandimmun Neoral, Novartis Pharma AG, Basel, Switzerland) when necessary due to side effects.

Antiviral treatment regimen and response definitions. Pegylated interferon α -2b (Peg-Intron, Schering-Plough, Inc., Kenilworth, NJ) and ribavirin (Rebetol, Schering-Plough, Inc., Kenilworth, NJ) were administered for 24 weeks. If HCV-RNA tested positive at that time, treatment was stopped, and if negative, the patient completed 48 weeks of treatment.

Pegylated interferon was initiated at 1.5 μ g/kg and was reduced to 1 μ g/kg when neutrophils dropped below 1.5×10^9 /L or platelets dropped below 50×10^9 /L. When neutrophil count was less than 1.0×10^9 /L, filgrastim (Neupogen 30, Amgen SA, Barcelona) was initiated. Until 2003, ribavirin was started at 600 mg/day, and subsequently adjusted according to hemoglobin levels. If there was no decrease in hemoglobin, the daily dose was increased to 800 mg/day. Since 2003, the initial ribavirin dose has been weight-adjusted to 800-1200 mg/day. The initial dose was reduced if hemoglobin dropped below 9 g/dL, and weekly darbepoetin- α (Aranesp, Amgen SA, Barcelona) was started if hemoglobin failed to increase within 2 weeks.

Rapid virological response (RVR) was defined as undetectable HCV-RNA at week 4, and early virological response (EVR), as a ≥ 2 log₁₀ viral load decrease at 12 weeks. End-of-treatment response (ETR) was defined as undetectable serum HCV-RNA at the

end of therapy. Sustained virological response (SVR) was defined as undetectable serum HCV-RNA 24 weeks after treatment completion (34).

Viral load testing From 2001 to 2006, HCV-RNA was detected by a qualitative polymerase chain reaction (PCR) assay (Cobas Amplicor HCV Test v2.0; Roche Molecular Diagnostics, Barcelona, Spain; detection limit 50 IU/mL) and, when positive, measured by a quantitative PCR assay (Cobas Amplicor HCV Monitor Test v2.0; Roche Molecular Diagnostics, Barcelona, Spain; detection limit 600 IU/mL). Since 2007, a real-time PCR-based test (Cobas Ampliprep/Cobas TaqMan; Roche Molecular Diagnostics, Barcelona, Spain; detection limit 15 IU/mL) has been used for HCV detection. HCV genotyping was performed by line probe assay (Inno-LiPA II[®]; Innogenetics, Antwerp, Belgium).

Genotyping of IL28B polymorphisms. Genomic DNA from LT recipients and their donors was extracted from formalin-fixed, paraffin-embedded biopsies of liver explants (recipients) and grafts (donors) obtained at LT, using the QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Germany). Genotyping of rs12979860 was performed using a real-time PCR with allele-specific Taq-Man probes, as described previously (26, 35). IL28B rs12979860 was defined as CC, CT, or TT.

Liver histology. Liver biopsy was performed prior to the start of therapy in all patients, and treatment was started if there was histological evidence of lobular hepatitis consistent with recurrent HCV or chronic active hepatitis without signs of acute or chronic rejection, biliary obstruction, or ischemic damage. Fibrosis was assessed by the Ishak scoring system [36]. All liver biopsies were evaluated by a single pathologist (H.A).

Statistical Analysis. Data are presented as medians and range, and categorical variables as frequency and percentage. Normality was determined by the Shapiro-Wilk test.

Differences between categorical variables were assessed by Chi-square test or Fisher's exact test or Mantel-Haenszel test for linear trends. Continuous variables were compared using Mann-Whitney.

A hierarchical and exhaustive logistic regression analysis strategy was conducted. The strategy to identify the best prognostic model from our cohort consisted in the generation and evaluation of all possible models from all candidate variables by a specific SPSS script (AllSetsReg - 2010, Domenech JM and Navarro JB, Laboratori d'Estadística Aplicada, UAB, Barcelona, Spain) [37]. The choice of all candidate variables was based on clinical relevance according to the most recent prognostic and therapeutic studies on the issue [21-25, 30,31], and all variables were considered for multivariate analysis regardless of the p-value obtained in the descriptive univariate analysis. The best final models were then classified based on the reduction of the logarithm of the likelihood ratio (-2LL) and the Area under the Receiver operating Characteristic curves (AUC) of the predicted probability of mortality for each model. The final model was selected taking these statistical parameters into account, in accordance to previous knowledge and especially to its potential clinical and research value. In order to refine the strategy and minimize spurious results, two prespecified rules were followed to choose among all candidate models. First, knowing that the number of patients achieving SVR in the cohort was 31, only those models with a maximum of three variables were retained for further consideration, in order to avoid overfitting. Second, based on the well-known central role of RVR in this setting, it was considered that all final models should include RVR. Donor age was introduced separately in models either as a quantitative variable or categorized (> 60 years yes/no). The choice of cut-off point was based on previous knowledge [25] and inspection of probability plots and Receiver Operating Characteristic (ROC) curves. Final models were then classified based on different statistical criteria. Reduction of the logarithm of the likelihood ratio (-2LL) was used as a descriptive measure of calibration (the closer -2LL gets to 0, the better the model adjusts to explain the outcome). For

discrimination (how well classes in the data set with different outcomes are separated), we used the Area under the ROC curves (AUC) of the predicted probability of SVR for each model. The final model was selected taking these statistical parameters into account, in accordance to previous knowledge and especially to its potential clinical and research value.

In order to facilitate the interpretation of the model, and to serve as guide of expected outcomes for research purposes, a pocket-chart with the expected probabilities of the different combinations of included variables was constructed. Significance was accepted at $p < 0.05$. The SPSS statistical package (SPSS Inc., version 15.0, and 19.0 Chicago, IL, USA) were used for the analysis.

Results

During the 9-year period studied, 491 patients received a LT at our institution of whom 222 had HCV-infection (45%) and 151 (68%) received antiviral treatment (AVT). From the latter, 44 were excluded (19 with HIV co-infection, 7 patients with fibrosing cholestatic hepatitis, 12 with HCV-genotype other than 1, six patients with missing HCV RNA level at weeks 4 and/or 12). Hence, the study cohort included 107 patients (**Fig. 1**).

As summarized in table 1, median age was 59 years (range 28-68), median donor age was 58 years (range 14-81), with 39% donors older than 60 years. Interval between LT and antiviral treatment was 5 months (range 1-74). All patients had baseline liver biopsy, performed before starting therapy, 38 patients (35%) had significant fibrosis at the time of treatment ($F \geq 2$). The prevalence of rs12979860 CC, CT and TT genotypes in recipient samples was 35 (33%), 56 (52%), and 16 (15%) respectively, whereas in donor samples genotype CC was the most common 48 (49%), followed by genotype CT 44 (45%) and TT 6 (6%). On treatment characteristics are summarize in table 2.

Predictors of Sustained Virological Response.

As summarized in table 1 and 2, SVR was achieved in 31 of 107 patients (29%), among those 16/35 (46%) were female vs 15/72 (21%) were male ($p=0.008$). Median age of donor was significantly lower in patients achieving SVR; 49 (14-81) vs 59 (15-81) ($p=0.03$). The same results were obtained when donor age was analyzed as a dichotomized variable (donors <60 years vs >60 years; 25/65 (38%), 6/42 (14%) respectively, ($p= 0.007$)).

Recipient IL28B CC was significantly more frequent in patients achieving SVR; 13/35 (37%), vs CT and TT, 17/46 (30%), and 1/16 (6%) respectively, $p=0.04$. Once treatment was started the variables related with SVR were patients completing treatment 28/53 (53%) vs 3/53 (6%) ($p<0.001$) and patients achieving RVR 9/12 (75%) vs 22/95 (23%), $p=0.001$, and EVR 31/60 (52%) vs 0/47, $p<0.001$. There were no differences concerning side effects, haematological support, rejection or CMV infection.

Classification rule for identification of early Sustained Virological Response predictors.

Univariate comparisons for SVR are shown in Table 1 and Table 2. All variables in the tables were considered candidates to be included in the multivariate models, regardless of the p-value shown in univariate analysis, except for those variables occurring after the first month of treatment (*EVR, ETR, completing treatment, patients receiving erythropoietin, transfusions or Granulocyte colony-stimulating, or patients presenting thrombocytopenia, CMV infection, rejection episodes, autoimmune hepatitis or depressive syndrome*).

Table 3 shows the best classification rules obtained after the evaluation of the logistic regression models of all possible combinations of the candidate variables.

As seen, these models were well calibrated and showed a good discrimination ability (with $AUC>0.750$), superior to that of individual variables alone (donor age >60 years, recipient IL28B or RVR). The model including donor age >60 years, recipient IL28B

and RVR showed the best discriminative ability (highest AUC and lowest -2LL), and was selected to generate the classification rules.

The formula of the prognostic indicator derived from the best model was: $[1.468 \times [\text{Donor age} > 60 \text{ years (0/1)}]] + [0.062 \times \text{Recipient IL28B CT (0/1)}] + [-2.107 \times \text{Recipient IL28B TT (0/1)}] + [2.521 \times \text{RVR (0/1)}] - 2.085$.

Table 4 represents the pocket chart showing the estimated probabilities of SVR of the different combinations of the variables of the selected model.

Patients with CC genotype achieving RVR were predicted to have a rate of SVR of 87% and 61% depending on donor age, $p=1$. In patients with CC genotype not achieving RVR, donor age becomes a determining factor for achieving SVR, 39% in donor >60 years vs 13% in donors <60 years, $p=0.02$. Regarding patients with CT genotype, patients achieving RVR have good prognosis (84% and 55% depending on donor age, $p=1$). However in those patients not achieving RVR chance of SVR was 3 times higher in those patients for whom donor age was < 60 years (33% vs 11%, $p=0.2$).

Discussion.

Prediction of response to antiviral therapy in chronic hepatitis C is often difficult; especially in the LT setting, with donor and recipient factors interacting. RVR has been mainly explored in the non-transplanted population, proving a strong predictive role, and is widely accepted [16-20]. However in the LT population more factors have to be taken into account, and other factors acquire main importance.

In the present observational study we studied a large cohort of LT patients focusing on the outcomes of SVR and its predictors, in order to assess the real value of the main donor and recipient characteristics and to optimize its use in clinical practice.

The main question addressed in our study is what outcomes we can expect after starting antiviral treatment in a real-world situation and what parameter could define early which patients should stop or continue antiviral treatment. These patients with too

low probabilities of achieving SVR should be identified as early as possible in order to offer them new treatment options, and avoid unnecessary and unsuccessful treatments.

The study was pragmatically oriented, aiming to provide a more adequate classification rule for selection of high-risk patients who should be early re-directed to be treated with new promising agents [38-43].

A recently published study [31] addresses the question of identification with easily variables of the likelihood of response to antiviral therapy in LT patients. The authors consider the basal variables, with a 2-by-2 combination, identifying recipient IL28B, donor age, baseline viral load and type of immunosupresion.

It is well known that patients with CC genotype and achieving RVR have a high rate of SVR. What is new here is the prognostic role of adding donor age especially in those patients not achieving RVR, building a stratified probability model. In CC genotype, patients not achieving RVR, donor age becomes a determining factor for achieving SVR.

Another important and somehow unexpected result is the high SVR rate in CT genotype patients. This was especially so in those achieving RVR, still in those not achieving SVR but for whom donor age was < 60 years the percentage of SVR was acceptable. Only those with donor > 60 years not achieving RVR were unlikely to achieve SVR.

Not as expected is the high rate of predicted SVR in patients with recipient TT genotype, achieving at a rate of 61% SVR when they receive a young donor and reach RVR. Nonetheless, the small number of patients in this subgroup makes us cautious about drawing conclusions.

The main question addressed in our study is what outcomes we can expect in LT-patients receiving AVT in a real-world situation if a careful implementation of current knowledge is used. If we only consider IL28B genotype the approach is insufficient and does not reflect the real potential to heal of LT patients.

Furthermore, using a logistic regression model that included basal variables and a 4-week variable we provide a pocket chart of estimated probabilities of SVR for each different stratum, which may be helpful in the design of comparative trials on the issue [44-46]. This strategy allow us to manage current and new treatments including those with Telaprevir, Boceprevir and new treatment becoming with and without interferon, with a rationale basis.

The main limitation of our study is its single-center and retrospective nature, decisions on treatment were taken by clinicians on a case-by-case basis, the lack of external validation, and the small number of patients attending to subgroup stratification. Nonetheless, the fact that patients were prospectively followed at a single center by the same physicians under homogeneous management criteria probably decreases the impact of potential biases. Although it may be argued that the demographics and other baseline characteristics of our study population might not be generalized to some parts of the world, we firmly believe that this strategy should be easily transferable to any LT center, as it is simply based on the use of generally available variables.

In summary, the early recognition of these patients with low possibilities of reach SVR, allows to improve their management and change the therapeutics, with an increasingly personalized and rationale management.

Acknowledgments

The authors thank Anna Oliveira and Angie Rico for their technical support and Esther Delgado for secretarial work. They also thank Sociedad Española de Trasplante Hepático (SETH, Spanish Society of Liver Transplantation).

References

- [1] Gane EJ, Portmann BC, Naoumov NV, Smith HM, Underhill JA, Donaldson PT, et al. Long-term outcome of hepatitis C infection after liver transplantation. *N Engl J Med.* 1996; 334:815-820.
- [2] Gane EJ. The natural history of recurrent hepatitis C and what influences this. *Liver Transpl.* 2008; 14 Suppl 2:S36-44.
- [3] Forman LM, Lewis JD, Berlin JA, Feldman HI, Lucey MR. The association between hepatitis C infection and survival after orthotopic liver transplantation. *Gastroenterology.* 2002;122:889-896
- [4] Berenguer M, Ferrell L, Watson J, Prieto M, Kim M, Rayon M, et al. HCV-related fibrosis progression following liver transplantation: increase in recent years. *J Hepatol* 2000; 32: 673–684.
- [5] Berenguer M, Prieto M, Rayo'n JM, Mora J, Pastor M, Ortiz V, et al. Natural history of clinically compensated HCV-related graft cirrhosis after liver transplantation. *Hepatology* 2000; 32: 852–858.
- [6] Schluger LK, Sheiner PA, Thung SN, Lau JY, Min A, Wolf DC, et al. Severe recurrent cholestatic hepatitis C following orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 1996; 23: 971–976.
- [7] Neumann UP, Berg T, Bahra M, Seehofer D, Langrehr JM, Neuhaus R, et al. Fibrosis progression after liver transplantation in patients with recurrent hepatitis C. *J Hepatol* 2004;41:830-836.
- [8] Samuel D, Bizollon T, Feray C, Roche B, Ahmed SNS, Lemonnier C, et al. Interferon-a 2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C after liver transplantation: a randomized study. *Gastroenterology* 2003; 124: 642–650.
- [9] Neff GW, Montalbano M, O'Brien CB, Nishida S, Safdar K, Bejarano PA, et al. Treatment of established recurrent hepatitis C in liver-transplant recipients with pegylated interferon-alfa-2b and ribavirin therapy. *Transplantation* 2004; 78:1303–1307.

- [10] Castells L, Vargas V, Allende H, Bilbao I, Luis LJ, Margarit C, et al. Combined treatment with pegylated interferon (a-2b) and ribavirin in the acute phase of hepatitis C virus recurrence after liver transplantation. *J Hepatol* 2005; 43: 53–59.
- [11] Carrion JA, Navasa M, García-Retortillo M, García-Pagan JC, Crespo G, Bruguera M, et al. Efficacy of antiviral therapy on hepatitis C recurrence after liver transplantation: a randomized controlled study. *Gastroenterology*. 2007; 132:1746-1756.
- [12] Berenguer M. Systematic review of the treatment of established recurrent hepatitis C with pegylated interferon in combination with ribavirin. *J Hepatol*. 2008; 49:274-287.
- [13] Berenguer M, Palau A, Aguilera V, Rayón JM, Juan FS, Prieto M. Clinical benefits of antiviral therapy in patients with recurrent hepatitis C following liver transplantation. *Am J Transplant*. 2008; 8:679-687.
- [14] Ferenci P. Predictors of response to therapy for chronic hepatitis C. *Semin Liver Dis*. 2004;24 Suppl 2:25-31.
- [15] Zeuzem S. Heterogeneous virologic response rates to interferon-based therapy in patients with chronic hepatitis C: who responds less well? *Ann Intern Med*. 2004;140:370-381.
- [16] Zeuzem S, Buti M, Ferenci P, Sperl J, Horsmans Y, Cianciara J, et al. Efficacy of 24 weeks treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C infected with genotype 1 and low pretreatment viremia. *J Hepatol*. 2006;44:97-103.
- [17] Ferenci P, Fried MW, Shiffman ML, Smith CI, Marinos G, Gonçalves FL Jr, Et al. Predicting sustained virological responses in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon alfa-2a (40 KD)/ribavirin. *J Hepatol*. 2005; 43: 425-433.

- [18] Poordad FF. Review article: the role of rapid virological response in determining treatment duration for chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010; 31:1251-1267.
- [19] Martinot-Peignoux M, Maylin S, Moucari R, Ripault MP, Boyer N, Cardoso AC, et al. Virological response at 4 weeks to predict outcome of hepatitis C treatment with pegylated interferon and ribavirin. *Antivir Ther.* 2009; 14:501-511.
- [20] Davis GL, Wong JB, McHutchison JG, Manns MP, Harvey J, Albrecht J. Early virologic response to treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2003; 38:645-652.
- [21] Hanouneh IA, Miller C, Aucejo F, Lopez R, Quinn MK, Zein NN. Recurrent hepatitis C after liver transplantation: on-treatment prediction of response to peginterferon/ribavirin therapy. *Liver Transpl.* 2008; 14:53-58.
- [22] Berenguer M, Aguilera V, Prieto M, Ortiz C, Rodríguez M, Gentili F, et al. Worse recent efficacy of antiviral therapy in liver transplant recipients with recurrent hepatitis C: impact of donor age and baseline cirrhosis. *Liver Transpl.* 2009; 15:738-746.
- [23] Berenguer M, Palau A, Fernandez A, Benlloch S, Aguilera V, Prieto M, et al. Efficacy, predictors of response, and potential risks associated with antiviral therapy in liver transplant recipients with recurrent hepatitis C. *Liver Transpl.* 2006; 12:1067-1076.
- [24] Cescon M, Grazi GL, Cucchetti A, Vetrone G, Ravaioli M, Ercolani G, Morelli MC, Piscaglia F, Tamè M, Pinna AD. Predictors of sustained virological response after antiviral treatment for hepatitis C recurrence following liver transplantation. *Liver Transpl.* 2009; 15:782-789.
- [25] Feng S, Goodrich NP, Bragg-Gresham JL, Dykstra DM, Punch JD, DeBroy MA, et al. Characteristics associated with liver graft failure: the concept of a donor risk index. *Am J Transplant.* 2006; 6:783-790.

- [26] McCarthy JJ, Li JH, Thompson A, Suchindran S, Lao XQ, Patel K, et al. Replicated association between an IL28B gene variant and a sustained response to pegylated interferon and ribavirin. *Gastroenterology*. 2010; 138:2307-14.
- [27] Thomas DL, Thio CL, Martin MP, Qi Y, Ge D, O'Huigin C, et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature*. 2009; 461(7265):798-801.
- [28] Duarte-Rojo A, Veldt BJ, Goldstein DD, Tillman HL, Watt KD, Heimbach JK, et al. The Course of Posttransplant Hepatitis C Infection: Comparative Impact of Donor and Recipient Source of the Favorable IL28B Genotype and Other Variables. *Transplantation*. 2012; 94:197-203.
- [29] Charlton MR, Thompson A, Veldt BJ, Watt K, Tillmann H, Poterucha JJ, et al. Interleukin-28B polymorphisms are associated with histological recurrence and treatment response following liver transplantation in patients with hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 2011; 53:317-324.
- [30] Coto-Llerena M, Pérez-Del-Pulgar S, Crespo G, Carrión JA, Martínez SM, Sánchez-Tapias JM, et al. Donor and recipient IL28B polymorphisms in HCV-infected patients undergoing antiviral therapy before and after liver transplantation. *Am J Transplant*. 2011; 11:1051-1057.
- [31] Crespo G, Carrión JA, Coto-Llerena M, Mariño Z, Lens S, Pérez-Del-Pulgar S, et al. Combinations of simple baseline variables accurately predict sustained virological response in patients with recurrent hepatitis C after liver transplantation. *J Gastroenterol*. 2012 Sep 26.
- [32] von Elm E, Altman DG, Egger M, et al. STROBE Initiative. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *Lancet* 2007;370:1453-7. (www.strobe-statement.org).

- [33] Margarit C, Bilbao I, Castells L, Lopez I, Pou L, Allende E, Escartin A. A prospective randomized trial comparing tacrolimus and steroids with tacrolimus monotherapy in liver transplantation: the impact on recurrence of hepatitis C. *Transpl Int*. 2005; 18:1336-1345.
- [34] Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB; American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology*. 2009;49:1335-1374.
- [35] Montes-Cano MA, García-Lozano JR, Abad-Molina C, Romero-Gómez M, Barroso N, Aguilar-Reina J, et al. Interleukin-28B genetic variants and hepatitis virus infection by different viral genotypes. *Hepatology*. 2010; 52:33-37.
- [36] Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De GJ, Gudat F, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995; 22:696–699.
- [37] Doménech JM y Navarro JB. Regresión logística binaria, multinomial, de Poisson y binomial negativa. 6ª ed. Barcelona: Signo; 2011.
- [38] Poordad F, McCone J Jr, Bacon BR, Bruno S, Manns MP, Sulkowski MS, et al. SPRINT-2 Investigators. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med*. 2011;364(13):1195-1206.
- [39] Zeuzem S, Andreone P, Pol S, Lawitz E, Diago M, Roberts S, ET al; REALIZE Study Team. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med*. 2011;364:2417-2428.
- [40] Fontana RJ, Hughes EA, Appelman H, Hindes R, Dimitrova D, Bifano M. Case report of successful peginterferon, ribavirin, and daclatasvir therapy for recurrent cholestatic hepatitis C after liver retransplantation. *Liver Transpl*. 2012;18:1053-1059.
- [41] Roche B, Samuel D. Hepatitis C virus treatment pre- and post-liver transplantation. *Liver Int*. 2012;32 Suppl 1:120-128.

- [42] Werner CR, Egetemeyr DP, Lauer UM, Nadalin S, Königsrainer A, Malek NP, et al. Short report: Telaprevir-based triple therapy in liver transplanted HCV patients: A 12 week pilot study providing safety and efficacy. *Liver Transpl.* 2012 Sep 1.
- [43] Coilly A, Roche B, Botta-Fridlund D, Leroy V, Pageaux PG, Si-Ahmed SN, et al. Efficacy and safety of protease inhibitors for severe hepatitis C recurrence after liver transplantation: A first multicentric experience. *Journal of Hepatology* 2012 (56), S21.
- [44] Ebell M. AHRQ White Paper: Use of clinical decision rules for point-of-care decision support. *Med Decis Making.* 2010 Nov-Dec;30(6):712-21.
- [45] Wyatt JC, Altman DG. Commentary: Prognostic models: clinically useful or quickly forgotten?
- [46] Christensen E. Multivariate survival analysis using Cox's regression model. *Hepatology.* 1987 Nov-Dec;7(6):1346-58.

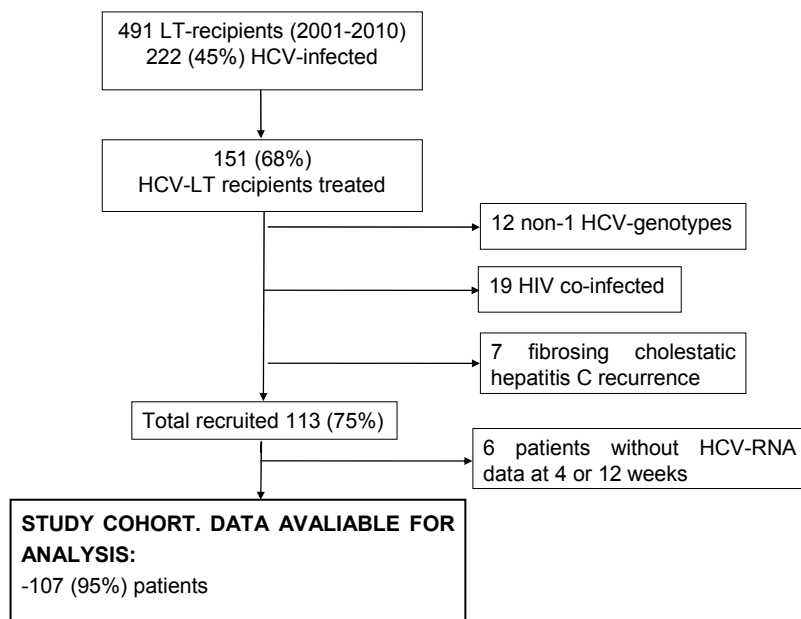


Figure 1. Flow chart of LT patients who received antiviral treatment in our Hospital between 2001-2010 and selection of the study cohort.

Table 1. Baseline characteristics of the study cohort of 107 LT patients and associated with sustained virological response.

Patients Characteristic	Total (n= 107)	SVR n= 31 (29)	No-SVR n= 76 (71)	p value
Male, n (%)	72 (67)	15 (48)	57 (75)	0.008
Recipient age, years*	59 (28-68)	61 (28-68)	59 (35-68)	0.8
Donor age, years*	58 (14-81)	49 (14-81)	59 (15-81)	0.03
Donor age <60 años, n (%)	65 (61)	25 (81)	40 (53)	0.007
Alanine aminotransferase, IU/mL*	197 (21-938)	211 (48-905)	187 (21-938)	0.5
Bilirubin mg/dL*	1 (0.3-31)	1 (0.3-13)	1 (0.3-31)	0.3
Haemoglobin, g/dL*	12.8 (9.2-16)	13 (10-15)	12.5 (9.2-16)	0.5
Leukocytes (X10 ⁹ /L) *	4.4 (1.8-10.7)	4.0 (2.1-8.6)	4.7 (1.8-10.7)	0.6
Platelets (X10 ⁹ /L) *	140 (54-333)	143 (57-255)	129 (54-333)	0.3
Creatinine, mg/dL*	1.1 (0.7-2.8)	1 (0.7-1.4)	1 (0.7-2.8)	0.8
Diabetes, n (%)	22 (21)	4 (13)	18 (24)	0.2
Pre-LT MELD*	14 (6-40)	13 (6-40)	15 (6-39)	0.5
Pretransplant viral load, log IU/mL*	5.9 (3-7.1)	5.6 (3.3-7.1)	5.9 (3.0-6.8)	0.2
Pretreatment viral load, log IU/mL*	6.6 (3.8-8.1)	6.5 (3.8-8.2)	6.7 (4.9-8.1)	0.1
Pre-LT IFN-Treatment, n (%)	32 (30)	7 (23)	25 (33)	0.3
Recipients IL28 n (%)				0.04
CC	35 (33)	13 (42)	22 (29)	
CT	56 (52)	17 (55)	39 (51)	
TT	16 (15)	1 (3)	15 (20)	
Donors IL28 n (%) [‡]				0.3
CC	48 (49)	15 (53)	33 (47)	
CT	44 (45)	10 (36)	34 (49)	
TT	6 (6)	3 (11)	3 (4)	
R-CC/D-CC, n (%) [‡]	15 (14)	5 (18)	10 (14)	0.8
R-CC/D-nonCC, n (%) [‡]	18 (17)	6 (21)	12 (17)	0.6
R-nonCC/D-CC, n (%) [‡]	33 (31)	10 (36)	23 (33)	0.8
R-nonCC/D-nonCC, n (%) [‡]	32 (30)	7 (25)	25 (36)	0.3
Pre-treatment fibrosis, n (%)				0.08
F <2	69 (65)	16 (70)	53 (52)	
F ≥2	38 (35)	15 (30)	23 (48)	
Immunosuppression, n (%)				0.3
Tacrolimus based	98 (92)	27 (87)	71 (93)	
Cyclosporine based	9 (8)	4 (13)	5 (7)	
IS including MMF	22 (21)	8 (26)	14 (18)	0.4
Ischemia time, minuts*	370 (175-700)	360 (175-515)	370 (220-700)	0.3
Warm ischemia time, minuts*	42 (15-87)	40 (15-70)	43 (20-87)	0.2
Interval between LT and antiviral treatment, months*	5 (1-74)	11 (1-53)	4 (1-74)	0.02
Antiviral treatment before 1 year after LT, n (%)	65 (62)	17 (55)	48 (66)	0.3

*Median (range)

MELD: Model of End-Stage Liver Disease

[‡]In 98 donors performed

R-CC/non-CC: Recipient IL28B genotype CC/non-CC

D-CC/non-CC: Donor IL28B genotype CC/non-C

Table 2. On treatment characteristics of the study cohort of 107 LT patients and associated with sustained virological response.

Patients Characteristic	Total (n= 107)	SVR (n=31) 29%	No SVR (n=76) 71%	p value
Completing treatment, n (%)	53 (50)	28 (90)	25 (33)	<0.001
Weeks of treatment	48 (4-72)	48 (12-72)	24 (4-72)	<0.001
Erythropoietin, n (%)	72 (67)	23 (74)	49 (64)	0.3
Transfusion, n (%)	25 (23)	8 (26)	17 (22)	0.7
Granulocyte colony-stimulating, n (%)	29 (27)	9 (29)	20 (27)	0.8
Thrombocytopenia (<100X10 ⁹ /L), n (%)	58 (54)	14 (45)	44 (59)	0.2
CMV infection, n (%)	17 (16)	2 (6)	15 (20)	0.09
Rejection episodes, n (%)	9 (8)	2 (6)	7 (9)	0.3
Autoimmune hepatitis, n (%)	5 (5)	2 (6)	3 (4)	0.6
Depressive syndrome, n (%)	11 (10)	4 (13)	7 (9)	0.6
RVR, n (%)	12 (11)	9 (29)	3 (4)	0.001
EVR, n (%)	60 (56)	31 (100)	29 (38)	<0.001
ETR, n (%)	47 (44)	31 (100)	16 (22)	<0.001

Table 3. Best logistic regression prognostic models for sustained virological response derived from the study cohort of 107 LT patients receiving antiviral therapy. Evaluation of the performance of donor age >60 years (yes/no), RVR, and Recipient IL28B Recipient (CC/CT/TT) are given for comparison.

	AUC	Se %	Sp %	-2LL
Donor age >60 years (yes/no),Recipient IL28B (CC/CT/TT),RVR (yes/no)	0.781	26	96	103.2
Donor age >60 years (yes/no), Gender (m/f), RVR (yes/no)	0.779	22	97	104.0
Recipient age, Donor age >60 years (yes/no), RVR (yes/no)	0.771	29	97	103.9
Bilirubin (mg/dL) >2 (yes/ no), Donor age > 60years (yes/no), RVR (yes/no)	0.767	30	96	103.8
Gender (m/f), Recipient IL28B (CC/CT/TT), RVR (yes/no)	0.765	26	96	105.0
Diabetes (yes/no), Donor age >60y (yes/no), RVR (yes/no)	0.750	23	96	107.5
Donor age >60 years (yes/no)	0.640	0	100	121.1
RVR (yes/no)	0.625	29	96	116.3
Recipient IL28B (CC/CT/TT)	0.611	0	100	122.4

The final selected model is highlighted in bold letters.

AUC, Area under the Receiver Operating Characteristic Curve; *Se*, Sensitivity; *Sp*,

Specificity; *-2LL*, reduction of the Logarithm of the Likelihood ratio.

The formula of the prognostic indicator derived from the best model was: $[1.468 \times [\text{Donor age} > 60 \text{ years (0/1)}]] + [0.062 \times \text{Recipient IL28B CT (0/1)}] + [-2.107 \times \text{Recipient IL28B TT (0/1)}] + [2.521 \times \text{RVR (0/1)}] - 2.085$.

Table 4. *Pocket chart* showing the estimated probabilities of Sustained Virological Response for different combinations of the variables of the best prognostic model obtained by logistic regression analysis.

IL28B Receptor	Donor age	RVR	SVR Probability (%)
CC	< 60 years	Yes	87
	> 60 years		61
	< 60 years	No	39
	> 60 years		13
CT	< 60 years	Yes	84
	> 60 years		55
	< 60 years	No	33
	> 60 years		11
TT	< 60 years	Yes	61
	> 60 years		27
	< 60 years	No	13
	> 60 years		4

V. Estudio 3

Estudio 3. Monitorización de ARN-VHC a la semana 12 tras tratamiento antiviral para predecir la respuesta viral sostenida en pacientes con recurrencia de infección por virus hepatitis C tras trasplante hepático

1. Resumen de la hipótesis, objetivos, procedimientos y resultados globales del estudio

Introducción

El objetivo del tratamiento antiviral es la negativización del ARN-VHC en sangre tras la finalización del tratamiento y clásicamente se define como la negativización del ARN-VHC a las 24 semanas tras concluir el tratamiento, siendo ésta una definición arbitraria. No se conoce el momento en que la recurrencia tiene lugar durante ese periodo. Un estudio previo realizado en pacientes inmunocompetentes (39) y otro posterior en pacientes con coinfección por VIH (99) habían evaluado la utilidad de la determinación del ARN-VHC a las 12 semanas tras la finalización del tratamiento antiviral para establecer la RVS, usando una técnica de alta sensibilidad (límite de detección 5-10 UI/mL). Este estudio estableció un valor predictivo positivo (VPP) de 99.7% (IC95% 99.1-100%) de la negatividad del ARN-VHC realizado a la semana 12 tras finalizar el tratamiento para predecir la RVS. En el campo del TH no se conocía si la interacción con la inmunosupresión podía influir en la dinámica viral y modificar estos resultados. Parecía importante confirmar estos resultados en los pacientes TH, susceptibles de tener otra patología, en los que

descartar o confirmar la infección por VHC es de gran utilidad y permite valorar precozmente la realización de nuevos tratamientos antivirales.

Hipótesis

La definición de la RVS a las 24 semanas de la finalización del tratamiento antiviral es un parámetro arbitrario. Conocer esta variable lo más precozmente posible puede mejorar el manejo de los pacientes TH con infección por VHC.

Objetivo

Evaluar la validez de la determinación del ARN del VHC a las 12 semanas post-tratamiento para predecir la RVS en pacientes trasplantados hepáticos tratados con peg-IFN- α y ribavirina

Pacientes y métodos

- Se diseñó un estudio retrospectivo, observacional, de pacientes seguidos de forma prospectiva tratados con Peg-IFN- α y RBV tras la recurrencia de la infección por VHC después del TH.

-Se utilizó una cohorte pacientes TH por VHC entre 2001 y 2010 Hospital Universitari Vall d'Hebrón. Se seleccionaron los pacientes que habían alcanzado una RFT y de los que había disponible una determinación de ARN-VHC a las semanas 4 (opcional), 12 y 24 tras la finalización del tratamiento antiviral.

-Se definió valor predictivo positivo (VPP) como la probabilidad de que la RVS ocurra en pacientes que presenten ARN-VHC negativo a las 12 semanas tras la finalización del tratamiento antiviral.

-La determinación de ARN-VHC se realizó:

Entre 2001-2006

PCR-cualitativa (límite de detección 50 UI/mL)

PCR-cuantitativa (límite de detección 600 UI/mL)

Entre 2007-2010

PCR a tiempo real (TaqMan, límite de detección 15 UI/mL)

Resultados

1. En el estudio se incluyeron 57 pacientes (RFT). De estos, 45 (79%) alcanzaron la RVS.
2. El ARN-VHC se determinó en 43 pacientes (75%) mediante PCR cualitativa y cuantitativa y en 14 pacientes (25%) mediante PCR en tiempo real.
3. Cincuenta y dos (91%) pacientes tenían determinación de ARN-VHC a la semana 4 tras la finalización del tratamiento antiviral, siendo indetectable en 46 pacientes (88.5%), de estos 45 alcanzaron la RVS.
4. A todos los pacientes se les realizó determinación de ARN-VHC a la semana 12 tras la finalización del tratamiento antiviral. El ARN-VHC era indetectable en 45 de esos 57 pacientes (79%) y todos alcanzaron la RVS (100%) (tabla 4).

5. En los 12 pacientes que recurrieron, la mediana de la carga viral en la semana 12 post-tratamiento fue 6.4 UI/mL (rango, 5.6–6.7 UI/mL), sin diferencias significativas con los niveles pre-tratamiento 6.4 UI/mL (rango, 3.8–8.2 UI/mL).

Tabla 4. VPP de la determinación en suero del ARN-VHC a las semanas 4 y 12 tras la finalización del tratamiento antiviral para identificar a los pacientes que alcanzarán la RVS.

	Pacientes*	RVSt	VPP (95% IC)
Fin de tratamiento	57	45	79% (66.8-87.5)
Semana +4§	46	45	85.7% (48.7-97.4)
Semana +12	45	45	100% (75.8-100)
Semana +24	45	45	100% (75.8-100)

* Número de pacientes con ARN-VHC indetectable en suero

† Número de pacientes con RVS a las 24 semanas de finalizar el tratamiento

§ Grupo de 52 pacientes con determinación de ARN-VHC a las 4 semanas tras la finalización del tratamiento

VPP, valor predictivo positivo; RVS, respuesta viral sostenida

Twelve-Week Posttreatment Follow-Up to Predict Sustained Virologic Response for Recurrent Hepatitis C Infection in Liver Recipients

Isabel Campos-Varela,^{1,2} Lluís Castells,^{1,2,7} Juan Ignacio Esteban,^{1,2} Marta Bes,^{2,3} Francisco Rodríguez-Frías,^{2,4} Gonzalo Sapichin,⁵ Helena Allende,⁶ Ramón Charco,⁵ and Rafael Esteban^{1,2}

Background. The current standard for determining sustained virologic response (SVR) in patients treated for hepatitis C virus (HCV) infection is undetectable serum HCV-RNA 24 weeks after treatment. This study evaluates the value of HCV-RNA determination at 12 weeks posttreatment (W+12) to predict SVR in liver transplant (LT) patients treated with pegylated interferon and ribavirin for recurrent HCV infection.

Methods. This study, performed in 2001 to 2010, included HCV-LT patients with an end-of-treatment response (undetectable serum HCV-RNA) and HCV-RNA testing at 12 and 24 weeks posttreatment (W+12/W+24). HCV-RNA was detected with a qualitative polymerase chain reaction assay (detection limit 50 IU/mL) and, when positive, measured by quantitative PCR (detection limit 600 IU/mL) up to 2006. Since 2007, a real-time PCR-based test (detection limit 15 IU/mL) has been used. The positive predictive value (PPV) was defined as the probability that SVR would occur in patients with undetectable HCV-RNA at W+12 and W+24.

Results. Of 162 patients treated during the study period, 57 (35%) had end-of-treatment response and were included. Of these, 45 (79%) had SVR and 12 (21%) had virologic relapse. At W+12, HCV-RNA was undetectable in 45 (79%) patients, all of whom had SVR, yielding a PPV for SVR at W+12 of 100% (95% confidence interval, 75.8%–100%).

Conclusions. Undetectable HCV-RNA at W+12 posttreatment has a high PPV for predicting SVR. HCV-RNA testing to assess SVR at this time point seems as valid as W+24 testing and could be considered for predicting SVR in HCV-LT patients receiving treatment with pegylated interferon and ribavirin.

Keywords: Antiviral treatment, Hepatitis C virus, Liver transplant, Sustained virologic response, Twelve-week post-treatment follow-up.

(*Transplantation* 2012;93: 450–453)

Chronic infection with hepatitis C virus (HCV) is a frequent cause of cirrhosis and hepatocellular carcinoma and has become the most common indication for liver transplantation (LT). Graft reinfection is universal (1, 2), and progression to graft cirrhosis occurs in 10% to 30% of patients at 5 to 7 years after the procedure, conferring a high risk of decompensation and poor survival (3–7). Management of

chronic hepatitis C in LT recipients with recurrent infection has improved significantly during the past decade, and treatment with pegylated interferon in combination with ribavirin is associated with viral response in 15% to 50% of patients (8–13). The goal of HCV treatment is defined as an undetectable serum HCV-RNA 24 weeks (W+24) after completion of treatment (14–16). Nonetheless, this definition is arbitrary, and the time frame in which relapse occurs within that period is not known. Based on previous reports in HCV-infected patients receiving standard interferon (17), Martinot-Peignoux et al. (18) recently investigated the value of HCV-RNA deter-

I.C.-V. is a recipient of a “Río Hortega” fellowship grant from the Instituto de Salud Carlos III and is enrolled in the postgraduate program of the Universitat Autònoma de Barcelona. CIBERehd is supported by Instituto de Salud Carlos III. This study has been partially supported by the grant PI10/01505 from the Spanish Ministry of Health.

The authors declare no conflicts of interest.

¹ Liver Unit, Department of Internal Medicine, Hospital Universitari Vall d’Hebron, Institut de Recerca (VHIR), Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain.

² Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

³ Transfusion Safety Laboratory, Banc de Sang i Teixits (BST), Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

⁴ Biochemistry Laboratory, Hospital Universitari Vall d’Hebron, Institut de Recerca (VHIR), Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain.

⁵ Liver Transplant Unit, Department of HPB-Surgery and Transplant, Hospital Universitari Vall d’Hebron, Institut de Recerca (VHIR), Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain.

⁶ Pathology Department, Hospital Universitari Vall d’Hebron, Institut de Recerca (VHIR), Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain.

⁷ Address correspondence to: Lluís Castells, M.D., Ph.D., Liver Unit, Department of Internal Medicine, Hospital Universitari Vall d’ Hebron, Pas-seig Vall d’Hebrón 119-129, 08035 Barcelona, Spain.

E-mail: llcastells@vhebron.net

I.C.-V., L.C., and J.I.E. wrote the manuscript and M.B., F.R.-F., G.S., H.A., R.C., and R.E. reviewed the manuscript.

Received 30 September 2011. Revision requested 21 October 2011.

Accepted 7 November 2011.

Copyright © 2012 by Lippincott Williams & Wilkins

ISSN 0041-1337/12/9304-450

DOI: 10.1097/TP.0b013e318240e9dd

mination at week 12 (W+12) posttreatment to evaluate sustained virologic response (SVR), using a sensitive transcription-mediated amplification assay (low-end detection limit of 5–10 IU/mL). The authors found that negative HCV-RNA status at W+12 yielded a positive predictive value (PPV) of 99.7% (95% confidence interval [CI], 99.1%–100%) for achieving SVR. Furthermore, the same determination at W+4 showed a PPV of 96% (95% CI, 93.1%–98.1%).

In LT recipients, as in nontransplanted HCV patients, relapse generally occurs soon after therapy has been discontinued. However, the value of W+12 viral load has not yet been evaluated in the LT setting, in which immunosuppressive treatment might modify the dynamics of HCV relapse. Because earlier identification of treatment outcome may be very helpful in patients at risk of other HCV-unrelated liver damage (i.e., rejection), the aim of this study was to retrospectively assess the value of serum HCV-RNA determination at W+12 and W+4 posttreatment to predict SVR in a population of LT patients treated with pegylated interferon and ribavirin for recurrent HCV infection.

RESULTS

Of 162 patients who received antiviral treatment, 57 (35%) had an end-of-treatment response (ETR) and were included in the study. At the end of the W+24 posttreatment follow-up, 45 (79%) had SVR and 12 (21%) had virologic relapse. The patients' characteristics are shown in Table 1. Forty-three (75%) of them were genotype 1 and 14 (25%) were genotype 2 or 3. The median interval between LT and antiviral treatment was 10 months (range, 1–240 months).

Fibrosis stage within the cohort was F 0–1 in 37 (65%), F 2–4 in 17 (30%), and F 5–6 in 3 (5%) patients. At the end of treatment, serum alanine levels (alanine aminotransferase) were 26 IU/mL (range, 21–35 IU/mL) and 21 IU/mL (range, 15–44 IU/mL) in SVR and virologic relapse, respectively ($P=ns$).

HCV-RNA was assessed by qualitative and quantitative PCR in 43 patients (75%) and by real-time PCR in 14 patients (25%).

Week 4 Posttreatment

Of the 57 patients with ETR, 52 (91%) underwent an HCV-RNA determination 4 weeks after the end of treatment. HCV-RNA was undetectable in 46 patients (88.5%), and 45 of these achieved SVR. At this point, only a qualitative assay was performed. PPV was 85.7% (95% CI, 48.7%–97.4%) (Table 2).

The only patient with undetectable HCV-RNA at W+4 posttreatment who experienced relapse was a genotype 1 patient who later achieved SVR in a second treatment course lasting 72 weeks.

It is worth mentioning that none of the patients with positive HCV-RNA testing at W+4 had attained rapid virologic response during treatment.

Weeks 12 and 24 Posttreatment

All patients underwent a follow-up visit at week 12 after treatment. HCV-RNA was undetectable in 45 of 57 patients (79%), all of whom achieved SVR (100%). Thus, the PPV of undetectable HCV-RNA at W+12 for SVR was 100% (95% CI, 75.8%–100%), which is the same predictive value of the

TABLE 1. Baseline characteristics of patients with end-of-treatment virologic response

Number of patients with ETR	57 (35)
Male, n (%)	37 (65)
Age (yr), median (range)	57 (28–72)
Alanine aminotransferase, IU/mL, median (range)	183 (110–314)
Pretreatment viral load, log IU/mL, median (range)	6.4 (3.8–8.2)
Genotype, n (%)	
1	43 (75)
2	2 (4)
3	12 (21)
Fibrosis stage, ^a n (%)	
0–1 ^b	37 (65)
2–4	17 (30)
5–6	3 (5)
Immunosuppression, n (%)	
Tacrolimus	10 (18)
Tacrolimus/mycophenolate mofetil	31 (54)
Tacrolimus/steroids	1 (2)
Tacrolimus/everolimus	12 (21)
Cyclosporine	3 (5)
Interval between LT and antiviral treatment (mo), median (range)	10 (1–240)
Sustained virologic response, n (%)	45 (79)
Virologic relapse, n (%)	12 (21)

^a Ishak scoring system.

^b Patients with F0 were those patients treated in the acute phase of HCV infection.

ETR, end-of-treatment response; LT, liver transplantation.

TABLE 2. Predictive value of serum HCV-RNA at 4 and 12 wk after antiviral treatment for identifying patients who will achieve SVR

	Patients ^a	SVR ^b	PPV (95% CI)
End of treatment	57	45	79% (66.8–87.5)
Week+4 ^c	46	45	85.7% (48.7–97.4)
Week+12	45	45	100% (75.8–100)

^a Number of patients with undetectable serum HCV-RNA.

^b Number of patients with SVR at the end of 24 wk posttreatment.

^c Group of 52 patients who had a week 4 posttreatment follow-up visit. CI, confidence interval; HCV, hepatitis C virus; PPV, positive predictive value; SVR, sustained viral response.

W+24 viral load, currently used for the SVR definition. In the 12 relapsers, W+12 viral load was 6.4 IU/mL (range, 5.6–6.7 IU/mL) and was not significantly different from the baseline value 6.4 IU/mL (range, 3.8–8.2 IU/mL). There were no relapses after W+12.

DISCUSSION

HCV-RNA testing 24 weeks after the end of antiviral treatment is the accepted reference standard for assessing the success of antiviral therapy in chronic hepatitis C infection. When patients have undetectable HCV-RNA at this time

point, they are considered to have SVR, which has been correlated with persistent eradication of infection (14, 15, 19, 20). Although the value of posttreatment W+12 viral load has been reported in nontransplanted patients (17, 18, 21), to our knowledge, this study is the first to evaluate this parameter to predict SVR in the transplant setting. The results suggest that HCV-RNA testing at W+12 using a sensitive assay (detection limit 50 or 15 IU/mL) can be considered as appropriate as W+24 testing to establish SVR in LT recipients. In this special population, immunosuppressant therapies do not seem to modify the dynamics of HCV relapse, with viral load returning early to values similar to those at baseline, although our sample size is too small to draw definitive conclusions. The promising data obtained for W+4 reinforce the observation that virologic relapse occurs early after treatment, but again, due to the limited number of patients, additional studies are required.

Results similar to ours have been reported recently in a study including human immunodeficiency virus-infected patients with HCV coinfection. In the 104 patients with ETR, a PPV of 100% at W+12 was found using a quantitative HCV-RNA PCR assay with a detection limit of 15 IU/mL (22).

W+12 viral load testing has been reported in studies using a variety of tests with different low-end detection limits, and all have shown its value for predicting SVR. Similarly, the W+12 PPV is independent of the type of interferon used (pegylated or not), and whether ribavirin is added (17, 18, 21, 22).

Early determination of treatment response may simplify patient care and reduce costs associated with monitoring, but, most importantly, in the particular setting of LT patients, early assessment of posttreatment response is of special importance because this population is at risk of developing complications (e.g., rejection), and early exclusion of relapse facilitates their recognition and prompt treatment. Furthermore, a shorter posttreatment follow-up may allow earlier consideration of retreatment with new directly acting antiviral agents.

In conclusion, HCV-RNA testing at 12 weeks after completion of treatment in LT recipients is as useful as testing at 24 weeks to establish SVR. The use of this parameter as a new definition for SVR can improve the patients' quality of life and posttreatment recovery from drug-related side effects and reduce the cost of treatment follow-up.

MATERIALS AND METHODS

Patient Selection

We reviewed the medical records of all adult patients who underwent LT for HCV-associated end-stage liver disease at Hospital Universitari Vall d'Hebrón, Barcelona, Spain. Patients who received pegylated interferon and ribavirin combination therapy between August 2001 and June 2010 for recurrent hepatitis C after LT and achieved an end-of-treatment response were included in the study.

Recurrent hepatitis C was established on the presence of histological features of hepatitis C (lobular and portal inflammation) in patients with detectable HCV-RNA after excluding all other causes of histological injury, including graft rejection, biliary or vascular complications, ischemic damage, and other confounding viral infections. Prospectively collected data were retrospectively analyzed.

Immunosuppression

The immunosuppression protocol for HCV-infected LT recipients at our center was changed during the study period (2004) from tacrolimus and steroids to tacrolimus (Prograf; Astellas Pharma GmbH, Munich, Germany) and mycophenolate mofetil (CellCept; Roche Pharmaceuticals Inc., NJ) with

or without low-dose steroid therapy. Tacrolimus was started at standard doses and adjusted to achieve a 10 to 15 ng/mL blood trough level during the first weeks. MMF was started at 1 to 2 g/day, depending on white blood cell count; 20 mg of methylprednisolone was administered daily, and the dose was progressively tapered over the 6 months after LT. Patients with pretransplant serum creatinine more than 1.5 mg/dL received basiliximab (Simulect; Novartis, Novartis Pharma AG, Basel, Switzerland), MMF, and steroids with later introduction of a lower dose of tacrolimus. Everolimus was permitted 4 to 6 months after surgery, either alone or in combination with calcineurin inhibitors or mycophenolate. Tacrolimus was switched to cyclosporine when necessary due to side effects.

Treatment Regimen

For HCV genotype 1 patients, pegylated interferon α -2b (Peg-Intron; Schering-Plough, Inc., Kenilworth, NJ) and ribavirin (Rebetol; Schering-Plough, Inc.) were administered for 24 weeks. If HCV-RNA tested positive at that time, treatment was stopped, and if negative, the patient completed 48 weeks of treatment. Patients with genotype 1 were treated for 48 weeks, and those requiring a second treatment were treated for 72 weeks. Patients infected with genotypes 2 and 3 were treated for 24 weeks. Pegylated interferon was initiated at 1.5 μ g/kg and was reduced to 1.0 μ g/kg when neutrophils dropped below $1.5 \times 10^9/L$ or platelets dropped below $50 \times 10^9/L$. When neutrophil count was less than $1.0 \times 10^9/L$, filgrastim (Neupogen 30; Amgen SA, Barcelona) was initiated (300 mg once or twice weekly) to maintain neutrophils above $1.0 \times 10^9/L$. Until 2003, ribavirin was started at 600 mg/day, and the dose was modified according to hemoglobin levels. If there was no decrease in hemoglobin, daily dose was increased to 800 mg/day. Since 2003, ribavirin has been started at 800 to 1200 mg/day, depending on the patient's weight. When hemoglobin dropped below 9 g/dL, ribavirin dose was reduced to 400 mg/day, and if hemoglobin did not increase within 2 weeks, darbepoetin alpha (Aranesp 50; Amgen SA, Barcelona, Spain) was started (50–100 mg, once weekly) to maintain hemoglobin above 10 g/dL.

Study Design

Patients were included if they completed treatment, presented an end-of-treatment virologic response defined as undetectable serum HCV-RNA, and had W+12 and W+24 posttreatment follow-up serum HCV-RNA determinations. Availability of the 4-week posttreatment follow-up viral load was not essential.

Virologic Evaluation

From 2001 to 2006, HCV-RNA was detected by a qualitative polymerase chain reaction assay (Cobas Amplicor HCV Test v2.0; Roche Molecular Diagnostics, Barcelona, Spain; detection limit 50 IU/mL) and, when positive, measured by a quantitative PCR assay (Cobas Amplicor HCV Monitor Test v2.0; Roche Molecular Diagnostics; detection limit 600 IU/mL). At W+4, only the qualitative assay was performed. Since 2007, a real-time PCR-based test (Cobas Ampliprep/Cobas TaqMan; Roche Molecular Diagnostics; detection limit 15 IU/mL) has been used for HCV detection.

HCV genotyping was performed by line probe assay (Inno-LiPA II; Innogenetics, Antwerp, Belgium).

Virologic Response

ETR was defined as undetectable serum HCV-RNA at the end of therapy and nonresponse as detectable serum HCV-RNA at the end of treatment. Virologic relapse was defined as undetectable serum HCV-RNA at the end of treatment and detectable serum HCV-RNA at the W+24 posttreatment follow-up. SVR was defined as undetectable serum HCV-RNA at the W+24 posttreatment follow-up. Rapid virologic response was defined as negative HCV-RNA at week 4 of therapy (14).

Liver Histology

Liver biopsy was performed before the start of therapy in all patients, and patients were treated if there was histological evidence of lobular hepatitis consistent with recurrent HCV and no signs of acute or chronic rejection, biliary

obstruction, or ischemic damage. Fibrosis was assessed by the Ishak scoring system (23). In patients treated in acute phase, fibrosis was no present (10).

Statistical Analysis

The patients' descriptive statistics were reported. Data are presented as medians and range and categorical variables as frequency and percentage. Normality was determined by the Shapiro-Wilk test.

The comparison of continuous variables at different time points (outcome of posttreatment viral load) was performed using the Wilcoxon signed-rank test. Results are expressed as odds ratios with 95% CIs. The PPV was defined as the probability that the outcome of interest (SVR) would occur in patients fulfilling the criteria (undetectable HCV-RNA) at 12 and 24 weeks after completion of treatment. Data were analyzed with SPSS software (15.0, SPSS Inc., Chicago IL).

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Celine Cavallo for English language edition and Esther Delgado for secretarial work. They also thank Sociedad Española de Trasplante Hepático (SETH, Spanish Society of Liver Transplantation).

REFERENCES

- Gane EJ, Portmann BC, Naoumov NV, et al. Long-term outcome of hepatitis C infection after liver transplantation. *N Engl J Med* 1996; 334: 815.
- Gane EJ. The natural history of recurrent hepatitis C and what influences this. *Liver Transpl* 2008; 14(suppl 2): S36.
- Forman LM, Lewis JD, Berlin JA, et al. The association between hepatitis C infection and survival after orthotopic liver transplantation. *Gastroenterology* 2002; 122: 889.
- Berenguer M, Ferrell L, Watson J, et al. HCV-related fibrosis progression following liver transplantation: Increase in recent years. *J Hepatol* 2000; 32: 673.
- Berenguer M, Prieto M, Rayo'n JM, et al. Natural history of clinically compensated HCV-related graft cirrhosis after liver transplantation. *Hepatology* 2000; 32: 852.
- Schluger LK, Sheiner PA, Thung SN, et al. Severe recurrent cholestatic hepatitis C following orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 1996; 23: 971.
- Neumann UP, Berg T, Bahra M, et al. Fibrosis progression after liver transplantation in patients with recurrent hepatitis C. *J Hepatol* 2004; 41: 830.
- Samuel D, Bizollon T, Feray C, et al. Interferon-a 2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C after liver transplantation: A randomized study. *Gastroenterology* 2003; 124: 642.
- Neff GW, Montalbano M, O'Brien CB, et al. Treatment of established recurrent hepatitis C in liver-transplant recipients with pegylated interferon-alfa-2b and ribavirin therapy. *Transplantation* 2004; 78: 1303.
- Castells L, Vargas V, Allende H, et al. Combined treatment with pegylated interferon (a-2b) and ribavirin in the acute phase of hepatitis C virus recurrence after liver transplantation. *J Hepatol* 2005; 43: 53.
- Carrion JA, Navasa M, García-Retortillo M, et al. Efficacy of antiviral therapy on hepatitis C recurrence after liver transplantation: A randomized controlled study. *Gastroenterology* 2007; 132: 1746.
- Berenguer M. Systematic review of the treatment of established recurrent hepatitis C with pegylated interferon in combination with ribavirin. *J Hepatol* 2008; 49: 274.
- Berenguer M, Palau A, Aguilera V, et al. Clinical benefits of antiviral therapy in patients with recurrent hepatitis C following liver transplantation. *Am J Transplant* 2008; 8: 679.
- Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, et al. American association for the study of liver diseases. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: An update. *Hepatology* 2009; 49: 1335.
- Maylin S, Martinot-Peignoux M, Moucari R, et al. Eradication of hepatitis C virus in patients successfully treated for chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2008; 135: 821.
- George SL, Bacon BR, Brunt EM, et al. Clinical, virologic, histologic, and biochemical outcomes after successful HCV therapy: A 5-year follow-up of 150 patients. *Hepatology* 2009; 49: 729.
- Zeuzem S, Heathcote EJ, Shiffman ML, et al. Twelve weeks of follow-up is sufficient for the determination of sustained virologic response in patients treated with interferon alpha for chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2003; 39: 106.
- Martinot-Peignoux M, Stern C, Maylin S, et al. Twelve weeks posttreatment follow-up is as relevant as 24 weeks to determine the sustained virologic response in patients with hepatitis C virus receiving pegylated interferon and ribavirin. *Hepatology* 2010; 51: 1122.
- Veldt BJ, Saracco G, Boyer N, et al. Long term clinical outcome of chronic hepatitis C patients with sustained virological response to interferon monotherapy. *Gut* 2004; 53: 1504.
- McHutchison JG, Poynard T, Esteban-Mur R, et al. Hepatic HCV-RNA before and after treatment with interferon alone or combined with ribavirin. *Hepatology* 2002; 35: 688.
- Aghemo A, Rumi MG, De Nicola S, et al. Twelve-week posttreatment follow-up predicts a sustained virological response to pegylated interferon and ribavirin therapy. *Hepatology* 2010; 52:1170.
- Rivero-Juárez A, Mira JA, Pérez-Camacho I, et al. Twelve week post-treatment follow-up predicts sustained virological response to pegylated interferon and ribavirin therapy in HIV/hepatitis C virus co-infected patients. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66: 1351.
- Ishak K, Baptista A, Bianchi L, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995; 22: 696.

VI. Discusión

Estudio 1: Resultados del tratamiento antiviral precoz versus tardío en la recurrencia de la infección por VHC en pacientes receptores de trasplante hepático

En este estudio se evaluó el momento de iniciar el tratamiento antiviral en los pacientes portadores de TH por infección por VHC. Para esto se utilizó una cohorte de pacientes portadores de trasplante hepático por VHC, dividiéndolos de forma retrospectiva en 2 grupos según hubiesen recibido tratamiento en el momento de la fase aguda de la recurrencia de la infección por VHC o en la fase de hepatitis crónica establecida.

El presente estudio corrobora los resultados del estudio previo (67) confirmando que realizar el tratamiento antiviral en la fase aguda de la recurrencia de la infección por VHC en el post-TH es eficaz, seguro y bien tolerado. A pesar del potencial riesgo de rechazo agudo en esta fase precoz (100,101), nuestros resultado demuestran que con un estrecho seguimiento de los niveles de inmunosupresores, la tasa de rechazo agudo similar en ambos grupos de pacientes. Tampoco hay diferencias en cuanto al número de infecciones por CMV, transfusiones recibidas, uso de EPO o de G-CSF.

La menor frecuencia del genotipo CC de la IL28B en los receptores de TH es congruente con el papel de éste en la curación espontánea de la infección por VHC y la sensibilidad a IFN (85-89). Aunque la distribución de los genotipos de IL28B entre los receptores fue similar en ambos grupos, independientemente del grupo de tratamiento, el hallazgo de una mayor frecuencia de genotipo CC

de la IL28B entre los donantes tratados en la fase aguda merece un análisis. Este hallazgo es consistente con lo descrito previamente por otros grupos (72,90), de modo que en los pacientes con recurrencia de la infección por VHC post-TH, describen una mayor progresión de la fibrosis en pacientes con un genotipo CC de la IL28B del donante, sugiriendo que aunque este haplotipo se haya asociado con una mayor RVS, en ausencia de tratamiento antiviral la evolución de la recidiva es más agresiva y la progresión a cirrosis aumenta y la supervivencia disminuye. En nuestro estudio la asignación al grupo de tratamiento fue hecha de forma retrospectiva, pero estos pacientes que recibieron tratamiento en la fase aguda, excepto los pacientes tratados en el seno del estudio previo (67), fueron pacientes con una recidiva clínica más grave, y uno de los factores que puede estar relacionado con este hecho es el genotipo de la IL28B del donante. Se necesitan de todas maneras más estudios para confirmar este hecho. De ser así, esta sería una variable a tener en cuenta para tomar la decisión de iniciar el tratamiento antiviral en el momento más precoz posible.

Otro aspecto a destacar es la posibilidad de seleccionar los donantes más adecuados para cada paciente, eligiendo el perfil más favorable para los pacientes con infección por VHC. Un primer paso necesario sería disponer de tecnología para poder conocer de forma rápida y barata el genotipo del donante. Si consideramos la posibilidad de asignar los órganos de donantes CC a receptores con genotipo CC, nos encontraríamos con un 33% de pacientes que tendrían más de un 80% de posibilidades de alcanzar la RVS. La desventaja de este planteamiento sería que de acuerdo con los hallazgos recientes y nuestros propios resultados, los pacientes que no son capaces de

alcanzar la RVS o no pueden recibir tratamiento tienen un mayor riesgo de eventos adversos (recurrencias más graves, progresión a cirrosis) (72, 90). En lo que respecta a los pacientes no-VHC habría que tener en cuenta si esto tendría consecuencias negativas, como por ejemplo una mayor frecuencia de rechazo agudo en los receptores con un genotipo CT/TT (102), aunque los datos son solo en relación al receptor y esto no se ha confirmado en otros estudios (73). Otro abordaje sería el de no asignar a los receptores con genotipo desfavorable órganos de donantes con criterios ampliados, sin embargo esta potencial penalización de los receptores con genotipo CC o no-VHC hace inviable este planteamiento.

Finalmente, es de esperar que el impacto del genotipo de IL28B en la RVS quede diluido si los tratamientos con los AA-D finalmente se convierten en una realidad para los pacientes trasplantados hepáticos (103, 104).

La tasa de RVS, sin embargo, es la misma independientemente del momento en que se realice el tratamiento. Analizando los 105 pacientes conjuntamente, solo 2 variables se asociaron con la RVS en el análisis multivariado; alcanzar la RVR y completar el tratamiento. Ambas son variables asociadas a la RVS en estudios previos (75). Al analizar la cohorte en función del momento del tratamiento ninguna variable logró alcanzar la significancia en el análisis multivariado, en relación a la pérdida de fuerza del análisis por el pequeño número de pacientes alcanzando los resultados de variables relacionadas.

Nuestro estudio identifica un subgrupo de pacientes con mayor mortalidad (bilirrubina pre-tratamiento >2 mg/dl, receptores de un donante > 60 años y pacientes que no alcanzan la RVS). Entre los pacientes que reciben tratamiento en la fase aguda las variables asociadas con la mortalidad fueron la

bilirrubina pre-tratamiento >2 mg/dL recibir un injerto de un donante > 60 años, mientras que en los pacientes tratados en fase crónica solo la bilirrubina >2 mg/dL. La recidiva de la infección por VHC tras el TH en forma colestásica es de conocido peor pronóstico (15,16) y es el único factor que se mantiene en nuestro análisis independientemente del momento del tratamiento. La identificación de este subgrupo de pacientes con peor pronóstico permite que se puedan beneficiar de tratamientos precoces, ya que la mortalidad se asocia no con el momento del tratamiento antiviral, si no de las características del paciente antes de empezar el tratamiento. Merece la pena comentar que la generalización de esta estrategia conllevaría tratar pacientes con poco riesgo de desarrollar fibrosis avanzada con el consiguiente ahorro tanto en efectos secundarios y mala calidad de vida como de gasto económico con lo que la necesidad de la identificación precoz de los pacientes en elevado riesgo de presentar una evolución desfavorable es primordial.

Todo esto nos hace pensar que la indicación del tratamiento antiviral en el momento de diagnosticar la recidiva de la infección por VHC es seguro y aplicable en pacientes cuidadosamente seleccionados, sin esperar a estadios más avanzados, planteando incluso iniciar en estos pacientes con peor pronóstico los tratamientos con los nuevos fármacos AA-D.

Estudio 2. Predictores precoces de respuesta al tratamiento antiviral de la recurrencia de la infección por VHC en pacientes receptores de trasplante hepático

En este estudio, la regresión logística (105) se utiliza para identificar la combinación de variables más precisa y sencilla para reconocer el subgrupo de pacientes con pocas posibilidades de responder al tratamiento antiviral. Se sigue un procedimiento exhaustivo y jerárquico para identificar el mejor modelo pronóstico. Una vez identificado su resultado se expresa mediante una tabla fácilmente interpretable con las probabilidades estimadas para cada uno de los patrones correspondientes a todas las posibles combinaciones de las variables predictoras (92-94).

A nuestro entender, un hecho novedoso de esta tesis es la observación de que los pacientes pueden ser estratificados según la probabilidad de alcanzar la RVS en el primer mes de tratamiento y según esto decidir qué esquema terapéutico seguir.

No podemos olvidar 2 puntos fundamentales; el primero es que la mejor estrategia de estratificación no está todavía definida ni se puede generalizar, el estudio 2 señala unas variables, que se han de confirmar en otras cohortes y han de ser comparadas con las estrategias sugeridas por otros grupos (71). La ventaja fundamental de esta estratificación en el primer mes es un modelo potente y que permite testar las opciones de curación de cada paciente, incluyendo un parámetro cinético muy potente, segregando a los pacientes en 2 grupos. El segundo es que actualmente la indicación de los nuevos AA-D no puede ser por ahora generalizada, ni el tratamiento estándar deba ser

rechazado por tener un genotipo de la IL28B desfavorable este enfoque nos permite racionalizar el uso de ambas estrategias.

Un estudio reciente (71) aborda la estratificación con variables sencillas de la probabilidad de respuesta al tratamiento antiviral en los pacientes TH. El abordaje metodológico es diferente, ya que con las 4 variables identificadas como predictoras independientes de la RVS (genotipo del receptor de la IL28B, carga viral basal, edad del donante y el tipo de inmunosupresión) realizan combinaciones del genotipo de la IL28B con las otras 3 para aumentar su capacidad predictiva. Los resultados obtenidos muestran que cuando se combinan el genotipo del receptor de la IL28B (CC/no-CC) y la carga viral basal las probabilidades de responder varían del 80 al 21% ($p < 0.001$), con la edad del donante oscilan entre 69 y 20% ($p = 0.004$) y al combinarlo con el tipo de inmunosupresión entre 69 y 20% ($p = 0.004$).

En nuestra cohorte el modelo testado únicamente con predictores basales tiene una potencia predictora menor, que cuando se incorpora la variable dinámica de respuesta viral a la semana 4. Esto junto con que el tratamiento estándar en el momento actual es el basado en Peg-IFN y RBV nos hace apostar por este abordaje dinámico.

La presentación de los resultados de la regresión logística en forma de tabla con estratos y riesgos asociados facilita su interpretación por el clínico y por el investigador y puede contribuir al diseño de nuevos modelos y a su incorporación a la práctica clínica y al proceso de toma de decisiones.

Estudio 3. Monitorización de ARN-VHC a la semana 12 tras tratamiento antiviral para predecir la respuesta viral sostenida en pacientes con recurrencia de infección por virus hepatitis C tras trasplante hepático

La negatividad del ARN-VHC a las 24 semanas tras la finalización del tratamiento antiviral es la determinación aceptada para comprobar la efectividad del tratamiento antiviral estándar. Cuando el ARN-VHC es negativo en este punto se considera que los pacientes han alcanzado la RVS, y esta se correlaciona con la erradicación de la infección (40). Sin embargo, este espacio de 24 semanas es una elección arbitraria, ya que el momento dentro de este periodo en el que se produce la recurrencia no ha sido evaluado.

Nuestro estudio confirma los datos descritos previamente en pacientes inmunocompetentes (39,106,107) y en pacientes con co-infección por VIH (99) tratados con tratamiento antiviral estándar. Los resultados obtenidos sugieren que la determinación del ARN-VHC a las 12 semanas con una técnica sensible (límite de detección 15 ó 50 UI/mL) es igual de eficaz que la determinación a las 24 semanas para establecer la RVS en pacientes receptores de TH. Los valores obtenidos en la determinación a la semana 4 indican que la recurrencia ocurre de manera muy precoz tras la finalización del tratamiento aunque el pequeño número de pacientes impide extraer conclusiones definitivas.

No parece tampoco que el tratamiento inmunosupresor influya en la dinámica de la recurrencia del VHC, con cargas virales similares a los que presentaban pre-tratamiento.

Tampoco parece que afecte a estos resultados el tipo de interferón usado o el empleo o no de ribavirina (39,98,106,107).

Conocer precozmente la curación o recurrencia de la infección por VHC consigue simplificar los controles y anticipar la posibilidad de un re-tratamiento. Esto adquiere una mayor relevancia en el manejo de los pacientes TH, por ser una población en riesgo de presentar alteraciones de la bioquímica hepática por diferentes motivos. El diagnóstico diferencial al que solemos enfrentarnos cuando estamos ante un paciente portador de un TH con infección VHC y alteración de las pruebas hepáticas en las semanas siguientes a la finalización del tratamiento antiviral es, una vez descartada la patología obstructiva, si nos hallamos ante un episodio de rechazo hepático o ante un brote de hepatitis por el VHC. Esta disyuntiva tiene implicaciones terapéuticas muy importantes y actuar con rapidez es crucial en este contexto. En caso de rechazo se requiere el ajuste de las dosis de los inmunosupresores y en caso de recidiva por el VHC, el reconocimiento precoz de la misma permite reducir la inmunosupresión (minimizando así los efectos secundarios de la misma) y realizar posible re-tratamientos de manera precoz (74), especialmente ahora que las posibilidades terapéuticas se han ampliado.

Resumen global

En resumen, la indicación de inicio de tratamiento, retirada y re-tratamientos precoces van ligadas a la intención de obtener de mejores resultados de RVS. Es un proceso en constante modificación según los tratamientos y el conocimiento de los factores implicados se amplía, llevándose a cabo un manejo global desde la indicación del tratamiento antiviral hasta el diagnóstico de la curación.

Limitaciones

La limitación fundamental de los estudios que componen esta tesis es que se trata de estudios retrospectivos, en que las decisiones sobre el tratamiento de cada paciente se tomaron de forma individual, siempre bajo el mismo criterio médico.

En segundo lugar el número de pacientes es relativamente bajo. Esto se pone de manifiesto en el escaso número de pacientes que alcanzan las variables que se pretenden analizar. En el estudio 1 seguramente esto es lo que impide extraer más conclusiones sobre las variables asociadas a la RVS en cada grupo. En el estudio 2 al realizar la estratificación, el número de pacientes es limitado y esto dificulta obtener conclusiones definitivas en alguno de los grupos e impidiendo también construir una cohorte de validación interna con nuestros pacientes. Esto hace necesario la comprobación de estos resultados por otros grupos para poder generalizar las conclusiones obtenidas.

Por último, la aplicabilidad de estos resultados puede ser limitada con la incorporación de los nuevos AA-D, ya que los esquemas terapéuticos cambiarán, pero creemos que las bases para identificar a los pacientes de mayor riesgo y la búsqueda de herramientas que permitan estratificar a los pacientes para hacer un uso racional de los fármacos disponibles son de utilidad y no perderán vigencia, aunque habrán de ser matizados.

Proyectos futuros

Los estudios que conforman esta tesis tienen como finalidad principal mejorar el manejo clínico y aumentar la supervivencia de los pacientes TH con infección por VHC, llegando al manejo individualizado y más racional posible, en base las características de donante y receptor y a variables dinámicas como son las bioquímicas y virológicas.

La incorporación a la práctica clínica de los nuevos antivirales abre un nuevo campo, con la necesidad de revisar y adaptar las indicaciones y algoritmos en uso, así como asegurar la seguridad en este grupo de pacientes.

La dramática mortalidad de las recidivas fibrosantes colostásicas sugiere que la evaluación en ensayos terapéuticos que incluyan los nuevos AA-D puede tener un gran impacto en la evolución de estos pacientes.

De manera análoga los pacientes portadores de TH con co-infección por VIH representan un subgrupo de especial complejidad dada la mayor progresión de la fibrosis por el VHC y la menor tasa de RVS con el tratamiento convencional en comparación con los mono infectados por VHC, y en los que las interacciones farmacológicas dificultan más aun los tratamientos. Se trata pues de otro grupo de pacientes en los que estamos sumamente interesados en explorar la aplicabilidad de las conclusiones extraídas en los estudios presentados y en los que se han de realizar ensayos terapéuticos para evaluar la seguridad y eficacia de los nuevos tratamientos.

Consideramos de sumo interés la creación de algoritmos pronósticos rigurosos y de fácil uso, la validación externa de los resultados obtenidos invita a plantear estudios colaborativos que nos permitan reforzar las conclusiones extraídas para que puedan ser generalizables.

VII. Conclusiones

1. El tratamiento antiviral en la fase aguda de la recurrencia del VHC en el TH es tan seguro y tolerable como en la fase crónica, sin aumentar el riesgo de rechazo, pero no aumenta la RVS.
2. Las variables asociadas con la RVS son la RVR y completar el tratamiento.
3. Las variables asociadas con la mortalidad son la bilirrubina pre-tratamiento >2 mg/dL, recibir un órgano de un donante mayor de 60 años y no alcanzar la RVS.
4. En los pacientes trasplantados hepáticos con infección por VHC genotipo 1, el polimorfismo del receptor de la IL28B, la obtención de la RVR y la edad del donante permiten identificar precozmente aquellos pacientes con escasas probabilidades de responder al tratamiento antiviral con Peg-interferón- α y ribavirina.
5. La negatividad del ARN-VHC a las 12 semanas tras la finalización del tratamiento antiviral predice la RVS con la misma fiabilidad que a la semana 24.

VIII. Bibliografía

1. Gane EJ, Portmann BC, Naoumov NV, et al. Long-term outcome of hepatitis C infection after liver transplantation. *N Engl J Med.* 1996; 334:815-820.
2. Gane EJ. The natural history of recurrent hepatitis C and what influences this. *Liver Transpl.* 2008; 14 Suppl 2:S36-44.
3. Garcia-Retortillo M, Forns X, Feliu A, Moitinho E, Costa J, Navasa M, et al. Hepatitis C virus kinetics during and immediately after liver transplantation. *Hepatology.* 2002 Mar;35(3):680-7.
4. Saraf N, Fiel MI, Deboccardo G, Emre S, Schiano TD. Rapidly progressive recurrent hepatitis C virus infection starting 9 days after liver transplantation. *Liver Transpl.* 2007 Jun;13(6):913-7.
5. Forman LM, Lewis JD, Berlin JA, Feldman HI, Lucey MR. The association between hepatitis C infection and survival after orthotopic liver transplantation. *Gastroenterology.* 2002 Apr;122(4):889-96.
6. Charlton MR, Thompson A, Veldt BJ, Watt K, Tillmann H, Poterucha JJ, et al. Interleukin-28B polymorphisms are associated with histological recurrence and treatment response following liver transplantation in patients with hepatitis C virus infection. *Hepatology.* 2011; 53:317-324.
7. Coto-Llerena M, Pérez-Del-Pulgar S, Crespo G, Carrión JA, Martínez SM, Sánchez-Tapias JM, et al. Donor and recipient IL28B polymorphisms in HCV-infected patients undergoing antiviral therapy before and after liver transplantation. *Am J Transplant.* 2011; 11:1051-1057.

8. Berenguer M, Palau A, Aguilera V, Rayón JM, Juan FS, Prieto M. Clinical benefits of antiviral therapy in patients with recurrent hepatitis C following liver transplantation. *Am J Transplant*. 2008 Mar;8(3):679-87.
9. Berenguer M, Charco R, Manuel Pascasio J, Ignacio Herrero J. Spanish society of liver transplantation (SETH) consensus recommendations on hepatitis C virus and liver transplantation. *Liver Int*. 2012 May;32(5):712-31.
10. Esteban JI, Sauleda S, Quer J. The changing epidemiology of hepatitis C virus infection in Europe. *J Hepatol*. 2008 Jan; 48(1):148-62.
11. Lim JK. Natural history of hepatitis C infection: a concise review. *Yale J Biol Med*. 2001 Jul-Aug;74(4):229-37.
12. D'Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. *J Hepatol*. 2006 Jan;44(1):217-31.
13. Berenguer M, Prieto M, Rayón JM, Mora J, Pastor M, Ortiz V, et al. Natural history of clinically compensated hepatitis C virus-related graft cirrhosis after liver transplantation. *Hepatology*. 2000 Oct;32 :852-8.
14. Lucey MR, Terrault N, Ojo L, Hay JE, Neuberger J, Blumberg E, et al. Long-term management of the successful adult liver transplant: 2012 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the American Society of Transplantation. *Liver Transpl*. 2013 Jan;19(1):3-26.
15. Sánchez-Fueyo A, Restrepo JC, Quintó L, Bruguera M, Grande L, Sánchez-Tapias JM, et al. Impact of the recurrence of hepatitis C virus

- infection after liver transplantation on the long-term viability of the graft. *Transplantation*. 2002 Jan 15;73(1):56-63.
16. Rosen HR, Gretch DR, Oehlke M, Flora KD, Benner KG, Rabkin JM, et al. Timing and severity of initial hepatitis C recurrence as predictors of long-term liver allograft injury. *Transplantation*. 1998 May 15;65(9):1178-82.
 17. Prieto M, Berenguer M, Rayón JM, Córdoba J, Argüello L, Carrasco D, et al. High incidence of allograft cirrhosis in hepatitis C virus genotype 1b infection following transplantation: relationship with rejection episodes. *Hepatology*. 1999 Jan;29(1):250-6.
 18. Firpi RJ, Abdelmalek MF, Soldevila-Pico C, Cabrera R, Shuster JJ, Theriaque D, et al. One-year protocol liver biopsy can stratify fibrosis progression in liver transplant recipients with recurrent hepatitis C infection. *Liver Transpl*. 2004 Oct;10(10):1240-7.
 19. Samonakis DN, Triantos CK, Thalheimer U, Quaglia A, Leandro G, Teixeira R, et al. Immunosuppression and donor age with respect to severity of HCV recurrence after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2005 Apr;11(4):386-95.
 20. Testa G, Crippin JS, Netto GJ, Goldstein RM, Jennings LW, Brkic BS, et al. Liver transplantation for hepatitis C: recurrence and disease progression in 300 patients. *Liver Transpl*. 2000 Sep;6(5):553-61.
 21. Guido M, Fagioli S, Tessari G, Burra P, Leandro G, Boccagni P, et al. Histology predicts cirrhotic evolution of post transplant hepatitis C. *Gut*. 2002 May;50(5):697-700.

22. Neumann UP, Berg T, Bahra M, Seehofer D, Langrehr JM, Neuhaus R, et al. Fibrosis progression after liver transplantation in patients with recurrent hepatitis C. *J Hepatol.* 2004 Nov;41(5):830-6.
23. Blasco A, Forns X, Carrión JA, García-Pagán JC, Gilibert R, Rimola A, Miquel R, Bruguera M, García-Valdecasas JC, Bosch J, Navasa M. Hepatic venous pressure gradient identifies patients at risk of severe hepatitis C recurrence after liver transplantation. *Hepatology.* 2006 Mar;43(3):492-9.
24. Carrión JA, Navasa M, Bosch J, Bruguera M, Gilibert R, Forns X. Transient elastography for diagnosis of advanced fibrosis and portal hypertension in patients with hepatitis C recurrence after liver transplantation. *Liver Transpl.* 2006 Dec;12(12):1791-8.
25. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poinard T; MULTIVIRC Group. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet.* 2001 Apr 7;357(9262):1069-75.
26. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2003 Aug;38(2):518-26.
27. Forns X, Ampurdanès S, Llovet JM, Aponte J, Quintó L, Martínez-Bauer E, et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology.* 2002 Oct;36(4 Pt 1):986-92.

28. Benlloch S, Heredia L, Barquero C, Rayón JM, Pina R, Aguilera V, et al. Prospective validation of a noninvasive index for predicting liver fibrosis in hepatitis C virus-infected liver transplant recipients. *Liver Transpl.* 2009 Dec;15(12):1798-807.
29. Martínez SM, Crespo G, Navasa M, Forns X. Noninvasive assessment of liver fibrosis. *Hepatology.* 2011 Jan;53(1):325-35.
30. Carrión JA, Fernández-Varo G, Bruguera M, García-Pagán JC, García-Valdecasas JC, Pérez-Del-Pulgar S, et al. Serum fibrosis markers identify patients with mild and progressive hepatitis C recurrence after liver transplantation. *Gastroenterology.* 2010 Jan;138(1):147-58.
31. Miro JM, Montejo M, Castells L, Rafecas A, Moreno S, Agüero F, et al; Spanish OLT in HIV-Infected Patients Working Group investigators. Outcome of HCV/HIV-coinfected liver transplant recipients: a prospective and multicenter cohort study. *Am J Transplant.* 2012 Jul;12(7):1866-76.
32. Berenguer M. What determines the natural history of recurrent hepatitis C after liver transplantation? *J Hepatol.* 2005 Apr;42(4):448-56.
33. Feng S, Goodrich NP, Bragg-Gresham JL, Dykstra DM, Punch JD, DeBroy MA, et al. Characteristics associated with liver graft failure: the concept of a donor risk index. *Am J Transplant.* 2006; 6:783-790.
34. Belli LS, Burroughs AK, Burra P, Alberti AB, Samonakis D, Cammà C, et al. Liver transplantation for HCV cirrhosis: improved survival in recent years and increased severity of recurrent disease in female recipients: results of a long term retrospective study. *Liver Transpl.* 2007 May;13(5):733-40.

35. Hanouneh IA, Feldstein AE, McCullough AJ, Miller C, Aucejo F, Yerian L, et al. The significance of metabolic syndrome in the setting of recurrent hepatitis C after liver transplantation. *Liver Transpl.* 2008 Sep;14(9):1287-93.
36. Foxton MR, Quaglia A, Muiesan P, Heneghan MA, Portmann B, Norris S, et al. The impact of diabetes mellitus on fibrosis progression in patients transplanted for hepatitis C. *Am J Transplant.* 2006 Aug;6(8):1922-9.
37. Burak KW, Kremers WK, Batts KP, Wiesner RH, Rosen CB, Razonable RR, et al. Impact of cytomegalovirus infection, year of transplantation, and donor age on outcomes after liver transplantation for hepatitis C. *Liver Transpl.* 2002 Apr;8(4):362-9.
38. Carrión JA, Navasa M, Forns X. Retransplantation in patients with hepatitis C recurrence after liver transplantation. *J Hepatol.* 2010 Nov;53(5):962-70.
39. Martinot-Peignoux M, Stern C, Maylin S, Ripault MP, Boyer N, Leclere L et al. Twelve weeks posttreatment follow-up is as relevant as 24 weeks to determine the sustained virologic response in patients with hepatitis C virus receiving pegylated interferon and ribavirin. *Hepatology.* 2010 Apr; 51:1122-1126.
40. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB; American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology.* 2009; 49:1335-1374.
41. Jensen DM, Morgan TR, Marcellin P, Pockros PJ, Reddy KR, Hadziyannis SJ, et al. Early identification of HCV genotype 1 patients

- responding to 24 weeks peginterferon alpha-2a (40 kd)/ribavirin therapy. *Hepatology* 2006;43:954-960.
42. Zeuzem S, Buti M, Ferenci P, Sperl J, Horsmans Y, Cianciara J, et al. Efficacy of 24 weeks treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C infected with genotype 1 and low pretreatment viremia. *J Hepatol* 2006;44:97-103.
43. Shiffman ML, Suter F, Bacon BR, Nelson D, Harley H, Sola R, et al. Peginterferon alfa-2a and ribavirin for 16 or 24 weeks in HCV genotype 2 or 3. *N Engl J Med* 2007;357:124-134.
44. Davis GL, Wong JB, McHutchison JG, Manns MP, Harvey J, Albrecht J. Early virologic response to treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *HEPATOLOGY* 2003;38:645-652.
45. Martinot-Peignoux M, Maylin S, Moucari R, Ripault MP, Boyer N, Cardoso AC, et al. Virological response at 4 weeks to predict outcome of hepatitis C treatment with pegylated interferon and ribavirin. *Antivir Ther.* 2009;14(4):501-11.
46. Roche B, Sebagh M, Canfora ML, Antonini T, Roque-Afonso AM, Delvart V, et al. Hepatitis C virus therapy in liver transplant recipients: response predictors, effect on fibrosis progression, and importance of the initial stage of fibrosis. *Liver Transpl.* 2008 Dec;14(12):1766-77.
47. Hanouneh IA, Miller C, Aucejo F, Lopez R, Quinn MK, Zein NN. Recurrent hepatitis C after liver transplantation: on-treatment prediction of response to peginterferon/ribavirin therapy. *Liver Transpl.* 2008; 14:53-58.

48. Berenguer M, Palau A, Fernandez A, Benlloch S, Aguilera V, Prieto M, et al. Efficacy, predictors of response, and potential risks associated with antiviral therapy in liver transplant recipients with recurrent hepatitis C. *Liver Transpl.* 2006; 12:1067-1076.
49. Berenguer M, Ortíz-Cantó C, Abellán JJ, Aguilera V, Rubín A, Prieto M, et al. Hepatitis C virus viral kinetics during α -2a or α -2b pegylated interferon plus ribavirin therapy in liver transplant recipients with different immunosuppression regimes. *J Clin Virol.* 2012 Mar;53(3):231-8.
50. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman M, Reindollar R, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 2001 Sep 22;358(9286):958-65.
51. Berenguer M. Systematic review of the treatment of established recurrent hepatitis C with pegylated interferon in combination with ribavirin. *J Hepatol.* 2008 Aug;49(2):274-87.
52. Poordad F, McCone J Jr, Bacon BR, Bruno S, Manns MP, Sulkowski MS, et al; SPRINT-2 Investigators. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med.* 2011 Mar 31;364(13):1195-206.
53. McHutchison JG, Everson GT, Gordon SC, Jacobson IM, Sulkowski M, Kauffman R, et al; PROVE1 Study Team. Telaprevir with peginterferon and ribavirin for chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med.* 2009 Apr 30;360(18):1827-38.
54. Buti M, Homs M. [New agents for the treatment of hepatitis C]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2012 Mar;30(3):147-50.

55. Forns X, Garcia-Retortillo M, Serrano T, Feliu A, Suarez F, de la Mata M, et al. Antiviral therapy of patients with decompensated cirrhosis to prevent recurrence of hepatitis C after liver transplantation. *J Hepatol* 2003;39:389–396.
56. Carrion JA, Martinez-Bauer E, Crespo G, Ramírez S, Pérez-del-Pulgar S, García-Valdecasas JC et al. Antiviral therapy increases the risk of bacterial infections in HCV-infected cirrhotic patients awaiting liver transplantation: a retrospective study. *J Hepatol* 2009;50:719–728.
57. Crespo G, Mariño Z, Navasa M, Forns X. Viral hepatitis in liver transplantation. *Gastroenterology*. 2012 May;142(6):1373-1383.
58. Zeuzem S, Andreone P, Pol S, Lawitz E, Diago M, Roberts S, et al. REALIZE Study Team. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med*. 2011 Jun 23;364(25):2417-28.
59. Pawlotsky JM. Treatment failure and resistance with direct-acting antiviral drugs against hepatitis C virus. *Hepatology*. 2011 May;53(5):1742-51.
60. Davis G, Nelson D, Terrault N, Pruett TL, Schiano TD, Fletcher CV, et al; Collaborative Antiviral Study Group. A randomized, open-label study to evaluate the safety and pharmacokinetics of human hepatitis C immune globulin (Civacir) in liver transplant recipients. *Liver Transpl* 2005; 11: 941–949.
61. Bzowej N, Nelson DR, Terrault NA, Everson GT, Teng LL, Prabhakar A, et al; PHOENIX Study Group. PHOENIX: A randomized controlled trial of peginterferon alfa-2a plus ribavirin as a prophylactic treatment after liver transplantation for hepatitis C virus. *Liver Transpl*. 2011 May;17:528-38.

62. Coilly A, Roche B, Samuel D. Current management and perspectives for HCV recurrence after liver transplantation. *Liver Int.* 2013 Feb;33 Suppl 1:56-62.
63. Kuo A, Tan V, Lan B, Khalili M, Feng S, Roberts JP, et al. Long-term histological effects of preemptive antiviral therapy in liver transplant recipients with hepatitis C virus infection. *Liver Transpl.* 2008 Oct;14(10):1491-7.
64. Terrault NA. Prophylactic and preemptive therapies for hepatitis C virus-infected patients undergoing liver transplantation. *Liver Transpl.* 2003 Nov;9(11):S95-S100.
65. Shergill AK, Khalili M, Straley S, Bollinger K, Roberts JP, Ascher NA, Terrault NA. Applicability, tolerability and efficacy of preemptive antiviral therapy in hepatitis C-infected patients undergoing liver transplantation. *Am J Transplant.* 2005 Jan;5(1):118-24.
66. Chalasani N, Manzarbeitia C, Ferenci P, Vogel W, Fontana RJ, Voigt M, et al; Pegasys Transplant Study Group. Peginterferon alfa-2a for hepatitis C after liver transplantation: two randomized, controlled trials. *Hepatology.* 2005 Aug;42(2):506.
67. Castells L, Vargas V, Allende H, Bilbao I, Luis Lázaro J, Margarit C, et al. Combined treatment with pegylated interferon (alpha-2b) and ribavirin in the acute phase of hepatitis C virus recurrence after liver transplantation. *J Hepatol.* 2005 Jul;43(1):53-9.
68. Zimmermann T, Böcher WO, Biesterfeld S, Zimmermann A, Kanzler S, Greif-Higer G, et al. Efficacy of an escalating dose regimen of pegylated

- interferon alpha-2a plus ribavirin in the early phase of HCV reinfection after liver transplantation. *Transpl Int.* 2007;20:583-590.
69. Cescon M, Grazi GL, Cucchetti A, Vetrone G, Ravaioli M, Ercolani G, et al. Predictors of sustained virological response after antiviral treatment for hepatitis C recurrence following liver transplantation. *Liver Transpl.* 2009 Jul;15(7):782-9.
70. ReViS-TC Study Group. Cyclosporine a-based immunosuppression reduces relapse rate after antiviral therapy in transplanted patients with hepatitis C virus infection: a large multicenter cohort study. *Transplantation.* 2011 Aug 15;92(3):334-40.
71. Crespo G, Carrión JA, Coto-Llerena M, Mariño Z, Lens S, Pérez-Del-Pulgar S, et al. Combinations of simple baseline variables accurately predict sustained virological response in patients with recurrent hepatitis C after liver transplantation. *J Gastroenterol.* 2012 Sep 26.
72. Duarte-Rojo A, Veldt BJ, Goldstein DD, Tillman HL, Watt KD, Heimbach JK, et al. The Course of Posttransplant Hepatitis C Infection: Comparative Impact of Donor and Recipient Source of the Favorable IL28B Genotype and Other Variables. *Transplantation.* 2012; 94:197-203.
73. Lange CM, Moradpour D, Doehring A, Lehr HA, Müllhaupt B, Bibert S, et al. Impact of donor and recipient IL28B rs12979860 genotypes on hepatitis C virus liver graft reinfection. *J Hepatol.* 2011; 55:322-327.
74. Berenguer M, Roche B, Aguilera V, Duclos-Vallée JC, Navarro L, Rubín A, et al. Efficacy of the retreatment of hepatitis C virus infections after

- liver transplantation: role of an aggressive approach. *Liver Transpl.* 2013 Jan;19(1):69-77.
75. Picciotto FP, Tritto G, Lanza AG, Addario L, De Luca M, Di Costanzo GG, et al. Sustained virological response to antiviral therapy reduces mortality in HCV reinfection after liver transplantation. *J Hepatol.* 2007 Mar;46(3):459-65.
76. Veldt BJ, Poterucha JJ, Watt KD, Wiesner RH, Hay JE, Kremers WK, et al. Impact of pegylated interferon and ribavirin treatment on graft survival in liver transplant patients with recurrent hepatitis C infection. *Am J Transplant.* 2008 Nov;8(11):2426-33.
77. Bizollon T, Pradat P, Mabrut JY, Radenne S, Ducerf C, Baulieux J, et al. Histological benefit of retreatment by pegylated interferon alfa-2b and ribavirin in patients with recurrent hepatitis C virus infection posttransplantation. *Am J Transplant.* 2007 Feb;7(2):448-53.
78. Carrión JA, Navasa M, García-Retortillo M, García-Pagan JC, Crespo G, Bruguera M, et al. Efficacy of antiviral therapy on hepatitis C recurrence after liver transplantation: a randomized controlled study. *Gastroenterology.* 2007 May;132(5):1746-56.
79. Crespo G, García-Juárez I, Mariño Z, Londoño MC, Lens S, Carrión JA, et al. El tratamiento de mantenimiento con interferón pegilado en la hepatitis C postrasplante hepático estabiliza la recurrencia y prolonga la supervivencia en pacientes no respondedores al tratamiento convencional. *Gastroenterol Hepatol.* 2013, 36 (Espec Congr 1):14-17.
80. Garg V, van Heeswijk R, Lee JE, Alves K, Nadkarni P, Luo X. Effect of telaprevir on the pharmacokinetics of cyclosporine and tacrolimus.

- Hepatology. 2011 Jul;54(1):20-7.
81. Hulskotte E, Gupta S, Xuan F, van Zutven M, O'Mara E, Feng HP, et al. Pharmacokinetic interaction between the hepatitis C virus protease inhibitor boceprevir and cyclosporine and tacrolimus in healthy volunteers. *Hepatology*. 2012 Nov;56(5):1622-30.
82. Coilly A, Roche B, Botta-Fridlund D, Leroy V, Pageaux PG, Si-Ahmed SN et al. Efficacy and safety of protease inhibitors for severe hepatitis C recurrence after liver transplantation: a first multicentric experience. *J Hepatol* 2012; 56 (Suppl. 2): s21.
83. Kwo P, Ghabril M, Lacerda M, Vinayek R, Tector AJ, Fridell J, et al. Use of telaprevir plus peg interferon/ribavirin for null responders post OLT with advanced fibrosis/cholestatic hepatitis C. *J Hepatol* 2012; 56(Suppl. 2): S86.
84. Giusto M, Rodriguez M, Navarro L, Rubin A, Aguilera V, San-Juan F, et al. Anemia is not predictive of sustained virological response in liver transplant recipients with hepatitis C virus who are treated with pegylated interferon and ribavirin. *Liver Transpl*. 2011 Nov;17(11):1318-27.
85. Thomas DL, Thio CL, Martin MP, Qi Y, Ge D, O'Huigin C, et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature* 2009;461:798-801.
86. Ge D, Fellay J, Thompson AJ, Simon JS, Shianna KV, Urban TJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009;461:399-401.
87. Bes M, Sauleda S, Campos-Varela I, Rodriguez-Frias F, Casamitjana N, Homs M, et al. IL28B genetic variation and hepatitis C virus-specific CD4(+) T-cell responses in anti-HCV-positive blood donors. *J Viral Hepat*. 2012 Dec;19(12):867-71.

88. Thompson AJ, Muir AJ, Sulkowski MS, Ge D, Fellay J, Shianna KV, et al. Interleukin-28B polymorphism improves viral kinetics and is the strongest pretreatment predictor of sustained virologic response in genotype 1 hepatitis C virus. *Gastroenterology* 2010; 139:120-129.
89. Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB; American Association for Study of Liver Diseases. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2011 Oct;54(4):1433-44.
90. Cisneros E, Baños I, Citores MJ, Duca A, Salas C, Noblejas A, et al. Increased risk of severe hepatitis C virus recurrence after liver transplantation in patients with a T allele of IL28B rs12979860. *Transplantation*. 2012 Aug 15;94(3):275-80.
91. Fukuhara T, Taketomi A, Motomura T, Okano S, Ninomiya A, Abe T, et al. Variants in IL28B in liver recipients and donors correlate with response to peg-interferon and ribavirin therapy for recurrent hepatitis C. *Gastroenterology*. 2010 Nov;139(5):1577-85,1585.
92. Ebell M. AHRQ White Paper: Use of clinical decision rules for point-of-care decision support. *Med Decis Making*. 2010 Nov-Dec;30(6):712-21.
93. Wyatt JC, Altman DG. Commentary: Prognostic models: clinically useful or quickly forgotten?
94. Christensen E. Multivariate survival analysis using Cox's regression model. *Hepatology*. 1987 Nov-Dec;7(6):1346-58.

95. Lee DS, Stitt A, Austin PC, Stukel TA, Schull MJ, Chong A, et al. Prediction of heart failure mortality in emergent care: a cohort study. *Ann Intern Med.* 2012 Jun 5;156(11):767-75.
96. Cuervas-Mons V, de la Rosa G, Pardo F, Sanjuan F, Valdivieso A, García-Valdecasas JC, et al. Los resultados del trasplante hepático en la cirrosis por el virus de la hepatitis C no han mejorado durante los últimos 20 años: análisis del registro español de trasplante hepático. *Gastroenterol Hepatol.* 2013, 36 (Espec Congr 1):10-13.
97. Berenguer M, Aguilera V, Prieto M, Ortiz C, Rodríguez M, Gentili F, Risalde B, Rubin A, Cañada R, Palau A, Rayón JM. Worse recent efficacy of antiviral therapy in liver transplant recipients with recurrent hepatitis C: impact of donor age and baseline cirrhosis. *Liver Transpl.* 2009; 15:738-46.
98. Jaeckel E, Cornberg M, Wedemeyer H, Santantonio T, Mayer J, Zankel M, et al. Treatment of acute hepatitis C with interferon alfa-2b. *N Engl J Med* 2001;345:1452–1457.
99. Rivero-Juárez A, Mira JA, Pérez-Camacho I, et al. Twelve week post-treatment follow-up predicts sustained virological response to pegylated interferon and ribavirin therapy in HIV/hepatitis C virus co-infected patients. *J Antimicrob Chemother.* 2011; 66: 1351-1353.
100. Samuel D. Hepatitis C, interferon, and risk of rejection after liver transplantation. *Liver Transpl.* 2004;10:868-871.
101. Saab S, Kalmaz D, Gajjar NA, Hiatt J, Durazo F, Han S, et al. Outcomes of acute rejection after interferon therapy in liver transplant recipients. *Liver Transpl.* 2004;10:859-867.

102. Bitetto D, Fabris C, Falletti E, Fornasiere E, Avellini C, Cmet S, et al. Recipient interleukin-28B Rs12979860 C/T polymorphism and acute cellular rejection after liver transplantation: role of the calcineurin inhibitor used. *Transplantation*. 2012 May 27;93(10):1038-44.
103. Thompson AJ. Genetic factors and hepatitis C virus infection. *Gastroenterology*. 2012 May;142(6):1335-9.
104. Duarte-Rojo A, Deneke MG, Charlton MR. Interleukin-28B polymorphism in hepatitis C and liver transplantation. *Liver Transpl*. 2013 Jan;19(1):49-58.
105. Doménech JM y Navarro JB. Regresión logística binaria, multinomial, de Poisson y binomial negativa. 6ª ed. Barcelona: Signo; 2011.
106. Zeuzem S, Heathcote EJ, Shiffman ML, et al. Twelve weeks of follow-up is sufficient for the determination of sustained virologic response in patients treated with interferon alpha for chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2003 Jul;39(1):106-11.
107. Aghemo A, Rumi MG, De Nicola S, Colombo M. Twelve-week posttreatment follow-up predicts a sustained virological response to pegylated interferon and ribavirin therapy. *Hepatology*. 2010 Sep;52(3):1170-1.