



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

***DOTTORATO DI RICERCA IN FISIOPATOLOGIA DELLE
MALATTIE DEL FEGATO - XXII CICLO
MED 09***

PROGETTO DI RICERCA

**“Valutazione della prevalenza di fibrosi epatica in una popolazione di
soggetti anti-HIVpositivi coinfetti e non con virus epatitici tramite
impiego di metodi non invasivi”**

IL COORDINATORE:
Prof. Giuseppe Montalto

DOTTORANDA:
Dott.ssa Valentina Li Vecchi

TUTOR:
Prof.ssa Lucina Titone

INDICE

INTRODUZIONE	pag.: 2
LA FIBROSI EPATICA NELLA POPOLAZIONE HIV- POSITIVA	pag.: 4
TERAPIA ANTIRETROVIRALE E FIBROSI EPATICA	pag.: 7
STEATOSI EPATICA E FIBROSI	pag.: 10
STEATOSI EPATICA NELLA POPOLAZIONE HIV- POSITIVA	pag.: 13
METODI DI STUDIO NON INVASIVI DELLA FIBROSI EPATICA	pag.: 16
OBIETTIVI DELLO STUDIO	pag.: 23
MATERIALI E METODI	pag.: 24
RISULTATI	pag.: 28
DISCUSSIONE	pag.: 34
CONCLUSIONI	pag.: 37
BIBLIOGRAFIA	pag.: 39
TABELLE	pag.: 46
FIGURE	pag.: 55

INTRODUZIONE

Nell'era dell'"highly active anti-retroviral therapy" (HAART) la malattia epatica è emersa come un problema significativo nei pazienti con infezione da "human immunodeficiency virus" (HIV), grazie al miglioramento della sopravvivenza e alla riduzione degli eventi AIDS correlati. La malattia epatica, principalmente causata dal virus dell'epatite C (HCV) rappresenta oggi la prima causa di morte in tale popolazione (1,2).

E' riportato in letteratura che la co-infezione HIV/HCV porta ad una più rapida progressione della malattia epatica a cirrosi (3,4). Altri fattori come la severa immunosoppressione e il consumo di alcol accelerano la progressione della fibrosi epatica HCV-correlata (5,6). Un ruolo controverso sulla progressione della fibrosi epatica sembra giocato dalla HAART. Recentemente è stato riportato un crescente numero di casi di malattia epatica criptogenetica in pazienti HIV mono-infetti sintomatici e asintomatici (7,8).

Numerosi fattori sembrano implicati nella patogenesi della steatosi epatica nei pazienti con infezione da HIV. Lo stato infiammatorio indotto dall'infezione da HIV sembra giocare un ruolo patogenetico (9,10); ma piuttosto che l'HIV di *per se*, la terapia HAART sembra essere maggiormente implicata nella patogenesi della steatosi epatica, anche se ciò appare ancora controverso (11). Altre coesistenti comorbidità possono causare steatosi in tale popolazione, obesità (12), diabete mellito (13,14), assunzione di alcol, co-infezione con virus epatitici.

Gran parte degli studi sulla steatosi epatica nella popolazione HIV sono stati condotti nei pazienti con co-infezione HIV/HCV. Pochi dati sono disponibili sulla prevalenza della steatosi epatica in pazienti HIV mono-infetti e dati ampiamente variabili sono

riportati nella popolazione di pazienti co-infetti con virus epatitici (range 23-72 %) (15). Inoltre pochi studi hanno valutato il rapporto tra steatosi e fibrosi epatica nei pazienti HIV mono-infetti (16-18).

La biopsia epatica è il gold standard per la valutazione della fibrosi e della steatosi epatica. Si tratta però di una metodica invasiva e gravata da un tasso di morbidità del 3% e mortalità e dello 0,03% (19-21). Per tali motivi non può essere impiegata nella valutazione routinaria della fibrosi epatica e steatosi. Nuovi metodi per la valutazione non invasiva della fibrosi epatica sono stati messi a punto. L'elastografia transitoria (Fibro-Scan[®]; EchoSens, Paris, France), è una nuova metodica d'imaging, rapida, semplice e ben tollerata, per la valutazione non invasiva della fibrosi attraverso la misurazione della "stiffness" (durezza) epatica (SE) (22,23). Essa è stata validata nella popolazione di pazienti HIV mono e co-infetti con i virus epatitici. Recentemente sono stati sviluppati alcuni marcatori biomorali di fibrosi per la valutazione non invasiva della fibrosi epatica. Questi, insieme all'elastografia transitoria, si sono rilevati particolarmente utili nella valutazione della fibrosi epatica soprattutto nella popolazione di pazienti HIV mono-infetti, asintomatici per i quali lo screening istologico non trova indicazione.

LA FIBROSI EPATICA NELLA POPOLAZIONE HIV-POSITIVA

Con l'introduzione della HAART, nei pazienti infetti da HIV si è osservato un declino della morbilità e della mortalità HIV-correlate e un incremento della malattia epatica conseguente all'infezione cronica con i virus dell'epatite C e B. In uno dei più ampi studi condotti sui pazienti HIV positivi (studio DAD) è stato evidenziato che più del 50% dei decessi tra i pazienti infetti da HIV riceventi terapia antiretrovirale (tARV) era determinato da cause non correlate all' "acquired immunodeficiency syndrome" (AIDS). Tra queste, la malattia epatica oggi rappresenta nei soggetti infetti da HIV la prima causa di morte (1,24). Si stima che nel mondo 4-5 milioni di soggetti infetti da HIV siano co-infetti cronicamente con HCV. Tra i soggetti infetti da HIV residenti in Europa Occidentale e negli Stati Uniti le infezioni croniche da HCV sono state riscontrate nel 25-30% dei casi (25). Le stime italiane si attestano intorno al 45% per la co-infezione HIV/HCV (26).

Rispetto ai pazienti HIV mono-infetti quelli HIV/HCV co-infetti presentano un più alto tasso di cirrosi epatica, di epatocarcinoma, di insufficienza epatica fulminante (27) e un più alto tasso di mortalità; rispetto ai pazienti HCV mono-infetti presentano più elevati livelli di HCV-RNA e una più breve sopravvivenza dall'insorgenza dello scompenso epatico HCV-correlato (28). L'infezione da HIV è associata ad aumentata velocità di progressione di fibrosi epatica in pazienti co-infetti con HCV. La progressione verso la cirrosi epatica è tre volte più alta nei co-infetti rispetto agli HCV mono-infetti, approssimativamente infatti il 33% dei co-infetti presenta un'evoluzione in cirrosi in meno di 20 anni (1). Una recente metanalisi di 17 studi su 3567 pazienti co-infetti, il 21% sviluppava cirrosi dopo 20 anni, il 49% dopo 30 anni. Un'altra metanalisi di 27 studi su 7666 pazienti ha evidenziato come i pazienti co-infetti avevano un tasso di

cirrosi 2 volte alto rispetto agli HCV mono-infetti (1). Severa fibrosi e cirrosi sono state riportate nel 10-25% dei co-infetti HCV viremici, con livelli di ALT normali (1).

I meccanismi responsabili della rapida velocità di progressione della malattia epatica nei co-infetti non sono ben noti, ma potrebbero includere effetti virali diretti ed alterazioni immunologiche, quali l'attivazione immunitaria, l'apoptosi e la ridotta risposta HCV specifica T cellulare:

- L'attivazione immune da parte del virus HIV induce modifiche nei pathways citochinici (IL-4, IL-5 e IL-13, TGF- β) che determinano un aumento dell'inflammation epatica e della fibrosi (1,29).
- La co-infezione incrementa l'apoptosi degli epatociti attraverso un percorso Fas/FasL che potrebbe spiegare la malattia epatica accelerata (1,29).
- L'accumulo di linfociti (Ly) T citotossici CD8+ nel fegato determina un aumento dei mediatori dell'inflammation nei pazienti co-infetti rispetto agli HCV mono-infetti, che potrebbe essere responsabile di un aumento del danno epatico nei pazienti co-infetti. Nuove evidenze mostrano come in corso di infezione da HIV Ly T CD8+ specifici si accumulino nel fegato nei pazienti con co-infezione e producano "tumor necrosis factor" TNF- α , che è associato con fibrosi epatica (1,29).
- Recentemente, una traslocazione microbica correlata all'infezione da HIV che responsabile dell'attivazione sistemica è stata collegata con la severità della malattia epatica HCV-correlata (1).
- Crescenti evidenze hanno mostrato che il virus dell'HIV si replica attivamente negli epatociti e nelle cellule stellate epatiche (HSC). L'infezione da parte dell'HIV delle HSC attivate promuove l'espressione di collagene e la secrezione di citochine pro-infiammatorie. Inoltre, le proteine dell' HIV inducono l'apoptosi

di epatociti e il rilascio di chemochine e citochine infiammatorie che favoriscono la fibrosi. Inoltre, la co-infezione HIV e HCV può aumentare i livelli del TNF- α , inducendo l'apoptosi degli epatociti mediata dal ligando (TRAIL) (1).

- L'insulino-resistenza (IR), comune anche nell'epatite cronica C, sembra svolgere un ruolo cruciale nella steatosi epatica e nella progressione delle malattie del fegato anche se il meccanismo è sconosciuto. Ad ogni modo l'iperinsulinemia e iperglicemia stimolano le HSC, portando ad un aumento del rilascio del fattore di crescita del tessuto connettivo e ad un accumulo di matrice extracellulare (1).

Per quanto riguarda gli effetti del virus dell'epatite C sulla infezione da HIV è stato suggerito che esso potrebbe agire sfavorevolmente sull'infezione da HIV favorendo la progressione verso l'AIDS.

Sono stati proposti diversi "pathways" tramite i quali il virus dell'epatite C potrebbe impattare sfavorevolmente sull'infezione da HIV. La co-infezione con HCV può aumentare l'attivazione immunitaria, portando all'apoptosi dei Ly T CD4+ nei pazienti non trattati per l'infezione da HIV (naive) e a una più rapida progressione verso la severa immunodeficienza (1). La co-infezione sembrerebbe anche ridurre il recupero dei Ly T CD4+ dopo che la HAART viene intrapresa, tale osservazione non è stata confermata in alcuni studi.

TERAPIA ANTIRETROVIRALE E FIBROSI EPATICA

La terapia HAART grazie all'immunoricostituzione, potrebbe rallentare la progressione della fibrosi epatica nei pazienti con co-infezione HIV/HCV. Tuttavia in letteratura sono riportati risultati contrastanti circa l'impatto della terapia antiretrovirale sulla progressione della fibrosi epatica. Una recente review di 10 studi relativi alla relazione tra tARV e fibrosi epatica, evidenziava che in 3 studi la tARV era associata ad una minore severità di fibrosi, in 6 non si riscontrava alcuna relazione tra tARV e fibrosi ed in 1 l'uso degli inibitori delle proteasi (PI) era associato a scompenso epatico (30). In altri studi la soppressione dell'HIV-RNA è stata associata ad un rallentamento della progressione della fibrosi e la tARV è stata associata ad una ridotta mortalità fegato-correlata (31,32).

Riportiamo altri studi con risultati discordanti su tARV e fibrosi: in uno studio condotto da Verma e coll. (33) la tempestività con cui veniva intrapresa la HAART dalla diagnosi di infezione da HIV era associata ad una minore progressione della fibrosi; Macias e coll. (34) hanno evidenziato che i regimi HAART contenenti nevirapina erano associati ad un più avanzato grado di fibrosi epatica, mentre i regimi HAART contenenti PI erano associati ad una minore severità di fibrosi e ad una più lenta progressione della fibrosi epatica nei co-infetti; Berenguer e coll. (35) hanno mostrato che l'esposizione agli inibitori non-nucleosidici della trascrittasi inversa (NNRTI) era associata a riduzione della progressione della fibrosi; Halfon e coll. (36) hanno evidenziato che l'esposizione ad NNRTI era un fattore indipendente di progressione di fibrosi epatica, mentre Blanco e coll. (37) hanno riscontrato che l'esposizione ai dideossinucleosidici era un fattore indipendente associato a fibrosi epatica avanzata (FEA).

La tossicità epatica è tra i più comuni eventi avversi seri associati alla tARV (10%) (38,39). Tutti i farmaci antiretrovirali sono potenzialmente epatotossici, alcuni più di altri e tra le varie classi di farmaci distinguiamo caratteristici pattern di epatotossicità.

Sono 4 i meccanismi principali responsabili di danno epatico (38,39,40):

- “immune reconstitution inflammatory syndrome” (IRIS) in presenza di co-infezione con virus epatitici,
- reazioni di ipersensibilità,
- tossicità diretta e/o farmaco-metabolica,
- tossicità mitocondriale,

L’IRIS è caratterizzata da flares epatitici in corso di epatite cronica da HCV e/o HBV, determinati dal rapido recupero immunologico, nell’ambito di una soppressione della carica virale HIV (41,42).

Le reazioni di ipersensibilità e/o tossicità diretta sono frequentemente osservate in seguito ad assunzione di NNRTI (43). Nevirapina è più frequentemente associata ad epatotossicità. Recentemente un nuovo farmaco appartenente alla classe NNRTI, l’etravirina, è stato associato ad insufficienza epatica (44). Anche efavirenz può determinare epatotossicità ma in minor misura rispetto ai precedenti. Reazioni di ipersensibilità sono state rilevate in seguito ad assunzione di abacavir specialmente in pazienti HLA-B*5701 positivi (45,46). Recentemente è disponibile un test di screening HLA-B*5701, per la valutazione della suscettibilità genetica alla reazione di ipersensibilità ad abacavir.

La tossicità mitocondriale si ritiene sia correlata all’inibizione o all’alterazione della DNA polimerasi γ umana, che nel fegato sembra verificarsi più frequentemente in seguito all’assunzione dei dideossinucleosidici (didanosina, stavudina, zidovudina) (47-49), rispetto ai non-dideossinucleosidici. Questa tossicità risulta in un aumento della

perossidazione lipidica, in un accumulo di acidi grassi negli epatociti, nell'alterazione della glicolisi e nell'accumulo dei lattati (50). Inoltre, è possibile che l'uso degli inibitori nucleosidici della trascrittasi inversa NRTI (in particolare stavudina) sia associato a un maggior rischio di insulino-resistenza ed ipertrigliceridemia (51,52). L'insulino-resistenza sembra svolgere un ruolo cruciale nella progressione del danno epatico, anche se il meccanismo patogenetico non è noto. L'iperglicemia e l'iperinsulinemia determinano una stimolazione delle cellule stellate, portando ad un aumentato rilascio del fattore di crescita del tessuto connettivo e ad un accumulo di matrice extracellulare. Anche l'uso dei PI può determinare un aumento degli acidi grassi, della sintesi del colesterolo negli epatociti e della resistenza all'insulina negli adipociti tramite diversi "pathways" (53).

Le co-infezioni con HCV ed HBV sono state associate ad un maggiore rischio di epatotossicità HAART-correlata (43). Altri fattori di rischio di epatotossicità HAART-correlata includono:

preesistente fibrosi epatica avanzata, elevati valori di ALT o AST pretrattamento, abuso di alcol, età avanzata, sesso femminile, prima esposizione alla HAART, significativo aumento del numero di Ly T CD4+ dopo l'inizio della HAART, concomitante assunzione di farmaci antitubercolari ed assunzione di cocaina (40).

In una recente review Núñez M. (54), ha affermato che per poter valutare il possibile impatto negativo della terapia antiretrovirale sulla progressione dell'epatopatia HCV-correlata nei pazienti con infezione da HIV, sono necessari ulteriori studi longitudinali.

STEATOSI EPATICA E FIBROSI

La steatosi epatica include un ampio spettro di condizioni cliniche caratterizzate dall'accumulo di gocce lipidiche, prevalentemente trigliceridi, all'interno del citoplasma degli epatociti. L'infiltrazione grassa del fegato può portare nel tempo a steatoepatite, cirrosi, insufficienza epatica terminale ed epatocarcinoma (55-57). La “non-alcoholic fatty liver disease” (NAFLD) e l’ “alcoholic liver disease” (ALD) sono le due condizioni più frequentemente associate all'accumulo di lipidi nel fegato.

La NAFLD è caratterizzata dall'accumulo di trigliceridi, prodotti dall'esterificazione degli acidi grassi (FFAs) e del glicerolo all'interno degli epatociti. Gli FFAs giungono al fegato tramite tre fonti distinte: la lipolisi (idrolisi degli FFAs e del glicerolo dai trigliceridi) all'interno del tessuto adiposo, l'idrolisi dei chilomicroni intestinali e la lipogenesi *de novo* (58,59). Gli FFAs possono essere utilizzati tramite la β -ossidazione, riesterificazione a trigliceridi ed accumulo in gocce lipidiche o formazione e trasporto delle lipoproteine a bassissima densità (VLDL) (59). Le VLDL sono formate dall'incorporazione dei trigliceridi nella apolipoproteina B, tramite una proteina transfer microsomiale, la cui sintesi e secrezione possono essere alterate. Ne consegue che l'accumulo di lipidi nel fegato può essere la conseguenza di un aumento della sintesi e distribuzione o di un ridotto trasporto e/o ossidazione del grasso (59).

L'insulina ha una potente azione di soppressione della lipolisi del tessuto adiposo. In presenza di insulino-resistenza, come nella NAFLD, questa soppressione è compromessa, risultando in un aumento dell'efflusso degli acidi grassi dal tessuto adiposo. L'iperinsulinemia associata all'insulino-resistenza porta ad una riduzione della

β -ossidazione degli acidi grassi, promuovendo in tal modo l'accumulo epatico dei lipidi (60).

La presenza di steatosi è strettamente associata ad uno stato infiammatorio cronico del fegato (61). In pazienti con “non alcoholic steato hepatitis” NASH sia i livelli sierici che epatici di $\text{TNF-}\alpha$ sono elevati. Il $\text{TNF-}\alpha$ promuove insulino-resistenza, analogamente all'IL-6 (62).

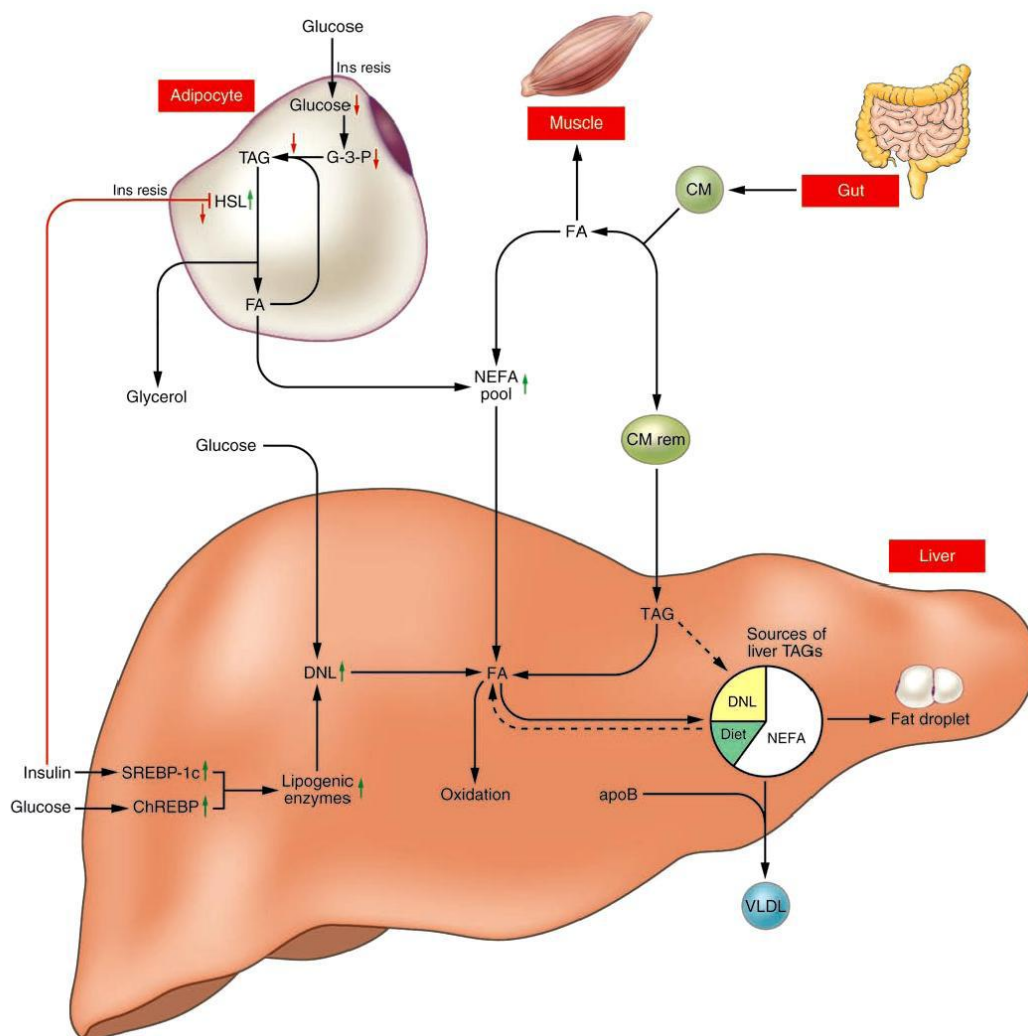


Figura 1 Fonti di acidi grassi e loro secrezione tramite la via delle lipoproteine, nei pazienti con “nonalcoholic fatty liver disease” (Kerry L. Donnelly, et al, J. Clin. Invest. 2005;115:1343-1351).

Il ruolo chiave della produzione di citochine da parte degli epatociti nella progressione dalla semplice steatosi a NASH è supportato da studi che dimostrano che le citochine sono in grado di incrementare le manifestazioni istologiche associate alla NASH, come la chemiotassi dei neutrofili, la necrosi/apoptosi degli epatociti, la formazione dei corpi di Mallory e l'attivazione delle cellule stellate (63). Il ruolo dello stress ossidativo e della disfunzione mitocondriale è ben stabilito. La β -ossidazione nel fegato normale, avviene nel mitocondrio, ma nel contesto della NAFLD tale processo può essere soppresso a causa dell'elevato livello di FFAs, dando luogo alla produzione dei radicali liberi dell'ossigeno. Questi inducono uno stress ossidativo, con conseguente attivazione di "pathways" infiammatori e danno mitocondriale (59).

La fibrosi e la sua forma più avanzata, la cirrosi, rappresentano l'esito finale della maggior parte delle malattie croniche di fegato, includendo la NASH. Nella maggior parte delle condizioni di danno epatico, la riparazione tissutale avviene grazie alla replicazione degli epatociti maturi (64). La persistenza di stimoli patogeni come la NASH o l'infezione virale è associata ad alti livelli di stress ossidativo che riduce la capacità replicativa degli adipociti. In questa situazione vengono attivati altri "pathways" di rigenerazione epatica. In particolare i progenitori di cellule epatiche hanno la capacità di differenziarsi sia in epatociti che in colangiociti, contribuendo alla riparazione del fegato (65). Appare controversa la relazione tra la reazione dutturale e la fibrosi epatica nei pazienti con NAFLD. Studi recenti condotti sul modello murino hanno suggerito che la fibrosi epatica precede la proliferazione dei progenitori di cellule epatiche in NAFLD, suggerendo che la fibrosi non è esclusivamente un risultato dell'espansione di tale linea cellulare (59).

STEATOSI EPATICA NELLA POPOLAZIONE HIV- POSITIVA

L'infezione da HIV è stata indipendentemente associata ad ipertrigliceridemia, bassi livelli di "high-density lipoprotein" (HDL) e di colesterolo totale, a causa dello stato infiammatorio cronico indotto dal virus stesso (aumentati livelli di interferone- α) (65,66).

E' stato riportato che più che l'HIV di *per sé*, la terapia antiretrovirale (67) sembra giocare un ruolo importante nella patogenesi della steatosi epatica, sebbene ciò rimanga ancora controverso. Altre coesistenti morbidità, come obesità (68), diabete mellito (69,70), assunzione di alcol (67) e co-infezione con i virus epatitici (15), possono essere responsabili della steatogenesi nella popolazione HIV-positiva.

Nell'era HAART è stato suggerito che più del 40% dei pazienti infetti, trattati con PI per un periodo di tempo superiore ad un anno, sviluppava la lipodistrofia. La lipodistrofia è una sindrome caratterizzata da alterata distribuzione del grasso corporeo (lipoatrofia e/o lipoaccumulo), spesso associata ad insulino-resistenza, ipertrigliceridemia, bassi livelli di HDL, tutte alterazioni frequentemente riscontrate in seguito all'uso dei PI (71,72). La lipodistrofia, in particolare la lipoatrofia è osservata anche in pazienti trattati con NRTI. Gli NRTI sono il "backbone" della maggior parte dei regimi antiretrovirali e nel 2-8% dei casi per anno, determinano la già descritta tossicità mitocondriale, responsabile a sua volta di steatosi epatica ed acidosi lattica (47-50). Numerosi casi di steatosi epatica con outcome fatale sono stati riportati in pazienti con infezione da HIV in trattamento con NRTI. I PI potrebbero inibire le proteine regolatorie degli adipociti e la differenziazione della proliferazione dei pre-adipociti in adipociti maturi (53,73). Essi possono anche sopprimere la sintesi della apolipoproteina

B negli adipociti (53,74) ed epatociti ed inibire l' "uptake" insulino-mediato del glucosio tramite la via del GLUT-4, recettore chiave negli adipociti e nelle cellule del muscolo scheletrico (53,75).

Poiché i meccanismi sottostanti la lipodistrofia indotta dai farmaci antiretrovirali e la NAFLD sono simili e forse gli stessi, è probabile che le due patologie siano correlate (67).

Dati discordanti sono riportati in letteratura circa la prevalenza della steatosi epatica nei pazienti co-infetti col virus dell'epatite C (range 23-72%) (15). Pochi dati sono noti circa la prevalenza della steatosi epatica e i relativi fattori di rischio nei pazienti HIV mono-infetti, in quanto l'esame bioptico non viene sistematicamente condotto in tali pazienti.

In diversi studi la diagnosi istologica di NASH è stata effettuata in pazienti HIV mono-infetti, sottoposti a biopsia epatica a causa di ipertransaminasemia o lipodistrofia.

A tal proposito, Lemoine e coll. (13) hanno effettuato una diagnosi istologica di NASH in sei dei nove pazienti HIV-positivi, affetti da insulino-resistenza e lipodistrofia e due dei cinque pazienti non insulino-resistenti; Akhtar e coll. (76) e Ingiliz e coll. (77) hanno trovato NASH rispettivamente nel 53% e 60% dei pazienti HIV-positivi sottoposti a biopsia epatica a causa di ipertransaminasemia. Strumenti non invasivi per la diagnosi di steatosi epatica sono stati raccomandati nei pazienti HIV-positivi in assenza di co-infezione con virus epatitici. A tal proposito la Risonanza Magnetica (RM) Spettroscopica è stata utilizzata da Sutinen e coll. (78) che hanno evidenziato un contenuto grasso del fegato significativamente più alto nei pazienti HIV lipodistrofici in HAART rispetto ai pazienti non infetti da HIV. In altri 2 studi condotti con la RM Spettroscopica la steatosi epatica è stata diagnosticata nel 13,8% dei pazienti HIV in

HAART e nel 42% dei pazienti HIV positivi non selezionati per specifici fattori di rischio steatosi epatica (79,80).

Guaraldi e coll. (81), utilizzando la tomografia computerizzata, hanno diagnosticato la NASH nel 37% dei pazienti HIV-positivi. A nostra conoscenza, in letteratura sono riportati 2 studi sulla valutazione ecografica della steatosi epatica nei pazienti HIV mono-infetti (82,83). In uno studio la prevalenza era del 31%, nel secondo la prevalenza era del 13%, ma in questo veniva valutata la sola steatosi severa. Negli ultimi 5 anni sono stati condotti numerosi studi sulla valutazione della reale prevalenza e fattori di rischio della steatosi epatica nei pazienti con co-infezione HIV/HCV, ma con risultati discordanti. In una recente metanalisi condotta su 12 studi in 1989 co-infetti HIV/HCV sottoposti ad esame biptico (15), è stata rilevata una prevalenza della steatosi del 50.8% complessivamente, con un range compreso tra il 23 e il 72%. Inoltre in 9 studi la presenza della steatosi correlava con fibrosi severa o cirrosi, in 7 studi essa correlava con la necroinfiammazione.

Per quanto riguarda l'impatto della terapia HAART sulla steatosi epatica dati contrastanti sono riportati in letteratura e su otto studi riportati da Machado e coll. (15) in cui veniva valutato l'uso di PI nei co-infetti, in uno solo è stata evidenziata una debole correlazione tra uso di PI e steatosi e in un solo studio su sei è stata riscontrata un'associazione positiva tra l'uso di NRTI e steatosi (84). Guaraldi e coll. (81) hanno evidenziato che l'esposizione cumulativa ad NRTI era un predittore indipendente di NAFLD, con un incremento dell'odds ratio dell'11% per ogni anno di esposizione. Crum-Cianflone e coll. (82) non hanno trovato una significativa correlazione tra NAFLD e terapia antiretrovirale.

METODI DI STUDIO NON INVASIVI DELLA FIBROSI EPATICA

Il gold standard per la valutazione della fibrosi epatica è la biopsia; questa è una procedura invasiva (19), frequentemente associata a complicanze lievi, come il dolore in circa il 30% dei casi, più raramente appare gravata da complicanze severe (0,3%) e morte (0,03%) (20,21). Tale procedura inoltre è costosa e può essere limitata nella interpretazione da errori semplici (33%) e variazioni intra e interobserver (20%) (85).

Per tali motivi è stato necessario mettere a punto nuovi metodi per la valutazione non invasiva della fibrosi. Tra i marcatori biochimici che correlano con gli stadi di fibrosi distinguiamo i marcatori che utilizzano i tests routinari di funzionalità epatica, poco costosi e di semplice impiego, i marcatori del metabolismo della matrice extracellulare (per es. l'acido ialuronico) e marcatori che impiegano entrambi i precedenti (86). Tra i vari studi effettuati per validare marcatori biomorali ricordiamo quello condotto da Sterling e coll. (87) in cui l' "aspartate aminotransferase to platelet ratio index" (APRI), veniva calcolato dividendo il livello (UI/l) di aspartato-aminotranferasi (AST), espresso come il numero di volte sopra il più alto limite di norma (UNL), per il valore assoluto delle piastrine ($10^9/L$) $[AST (/UNL) \times 100 / \text{piastrine } (10^9/l)]$. Per la diagnosi di fibrosi significativa un cut-off di 0,5 aveva una sensibilità e un specificità di 81% e 50% rispettivamente, con un VPN di 80%. Per la diagnosi di cirrosi un cut-off di 1 aveva VPN di 91% (88).

Sterling et al (89) hanno inoltre, formulato un ulteriore modello biochimico per la diagnosi non invasiva di fibrosi in pazienti HIV/HCV coinfezti. il FIB-4 che si ottiene come segue: età ([anni] x AST [U/L]) / ((PLT [$10^9/L$]) x (ALT[U/L])^{1/2}). L'AUROC dell'indice era 0,765 per la differenziazione tra Ishak stadio 0-3 e stadio 4-6. Al cut off < 1,45 il VPN per escludere la fibrosi avanzata (stadio 4-6) era del 90% con una

sensibilità del 70%. Al cut off $> 3,75$ per la diagnosi di fibrosi avanzata un VPP del 65% e una specificità del 97%.

Tra i metodi d'imaging, elastografia transitoria monodimensionale è utilizzata per la valutazione non invasiva della fibrosi epatica attraverso la misurazione della rigidità ("stiffness") del parenchima (90,91).

Attualmente è disponibile un unico apparecchio basato su tale metodica, il FibroScan® (EchoSens™, Paris, France) (figura 2).



Figura 2 FibroScan®

Questo è dotato di una sonda costituita da un trasduttore ad ultrasuoni da 5 MHz (1500 m/sec), montato sull'asse di un trasduttore elettrodinamico o vibratore a bassa frequenza, 50 Hz (1m/sec). Un colpo meccanico a bassa ampiezza indotto dal vibratore genera un'onda elastica a bassa frequenza, trasmessa attraverso il tessuto. La velocità di propagazione dell'onda è misurata in kiloPascal (kPa) dal trasduttore ultrasonoro ed è direttamente proporzionale alla rigidità del tessuto: più rigido è il tessuto, più velocemente l'onda si propaga (figura 3).

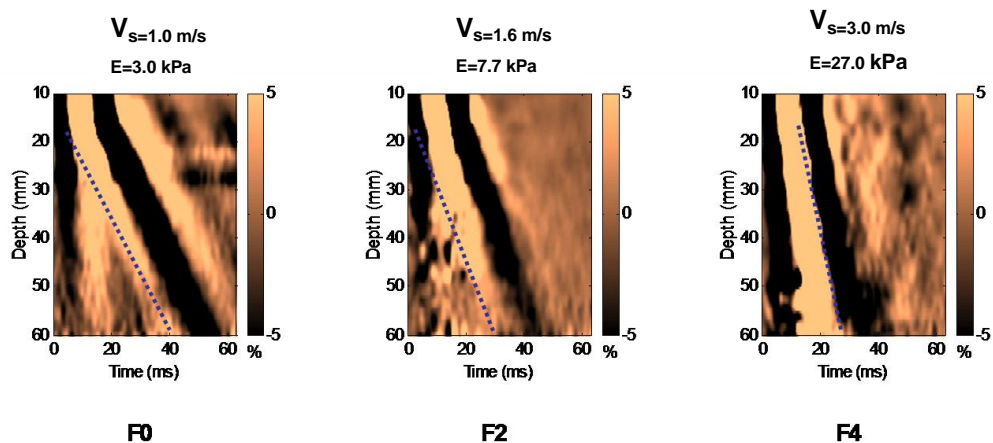


Figura 3 Differenti velocità di propagazione dell'onda elastica in rapporto all'elasticità del parenchima epatico.

In ciascun paziente vengono generalmente effettuate dieci misurazioni. La stiffness del tessuto epatico (SE) corrisponde alla mediana di dieci misurazioni valide. Il suo range di misurazione è ampiamente variabile (2,5-75 kPa), con un valore di normalità di 5,5 kPa. Il fallimento dell'esame è dato dall'acquisizione di meno di dieci misurazioni valide.

L'esame viene eseguito su paziente in posizione supina (figura 4), con braccio destro in abduzione massima, in corrispondenza della parte centrale del lobo destro del fegato.



Figura 4 Nuova sonda ergonomica e posizioni idonee dell'operatore, della sonda e del paziente, per l'esecuzione dell'esame.

La sonda deve essere posizionata due spazi intercostali sotto il margine superiore del fegato, lungo la linea ascellare media, perpendicolarmente alla superficie cutanea su cui viene applicata. La misurazione della stiffness è effettuata ad una profondità compresa

tra 25 e 65 mm al di sotto della superficie cutanea. Per una corretta esecuzione dell'esame, dovrebbe essere evitata l'interferenza con strutture vascolari e biliari. I risultati ottenuti (figura 5), immediatamente disponibili, includono: l'elasticità mediana (stiffness), il range-interquartile (IQR/M), che riflette la variabilità delle misurazioni valide, la durata dell'esame e la percentuale di successo (S. Rate), calcolata secondo il rapporto tra il numero di misurazioni valide e il numero totale di misurazioni.

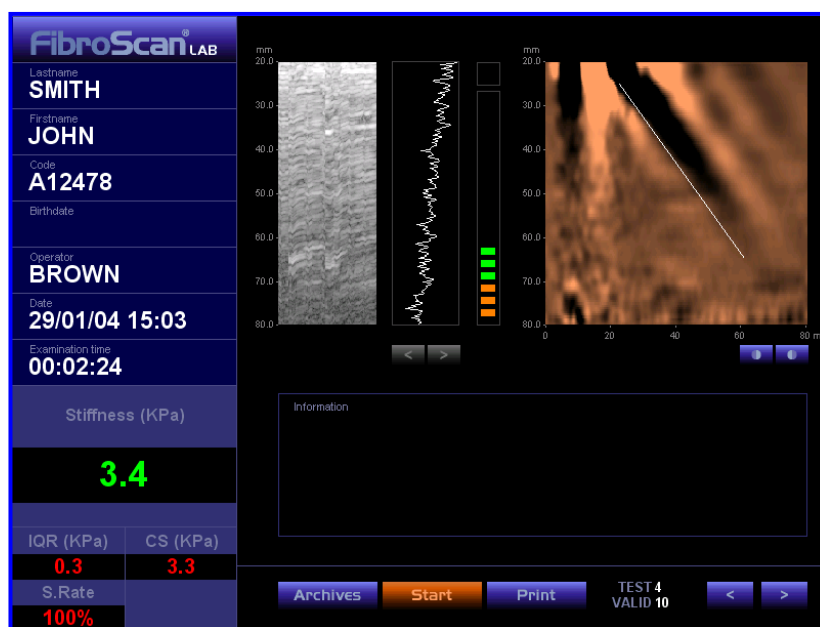


Figura 5 Software del FibroScan®

L'esame viene considerato valido se il range-interquartile è inferiore ad un terzo della misurazione mediana (ad es.: se la stiffness è pari a 15 kPa, l' IQR dovrà essere < 5) e se la percentuale di successo è almeno del 60%, secondo le raccomandazioni del manifatturiere. Queste ultime sono tutt'oggi oggetto di studio e di rivalutazione. Un ampio range-interquartile può essere dovuto ad una non corretta esecuzione dell'esame o alla malattia stessa, come nel caso della cirrosi macronodulare in cui la stiffness può variare nelle diverse aree epatiche. In presenza di ampia variabilità delle misurazioni è

importante valutare che la sonda sia perpendicolare alla parete toracica, che il vibratore non comprima la costa e che l'onda elastografica sia dritta e stretta.

Il volume del tessuto analizzato col FibroScan[®] ha 1 cm di diametro e 4 cm di lunghezza ed è circa 100 volte maggiore rispetto a quello valutato con l'esame biotico. I vantaggi dell'esame elastografico consistono nella sua rapidità (meno di cinque minuti), semplicità e non invasività; esso inoltre è operatore indipendente ed altamente riproducibile, requisiti importanti per un'ampia diffusione nella pratica clinica. Il FibroScan[®] può essere utilizzato da medici, infermieri ecc., che abbiano effettuato un training di più di 50 esami. Il fallimento dell'esame si verifica nel 2-10% dei casi ed è generalmente associato all'obesità (BMI > 30). Tale evenienza si può riscontrare anche in pazienti non obesi ma con ispessimento del pannicolo adiposo toracico che, interposto tra il lobo destro del fegato e la sonda del FibroScan[®], attenua sia le onde elastiche che le ultrasoniche. Nuove sonde in corso di validazione sono state prodotte per ridurre il tasso di fallimento dell'esame in tali pazienti. Tra i limiti della metodica ricordiamo inoltre l'impossibilità dell'esecuzione dell'esame in presenza di spazi intercostali stretti (donne asiatiche), ascite e vasi portali di ampio calibro, in quanto l'interposizione del fluido impedisce la propagazione dell'onda elastica. Controindicazioni all'esame sono la gravidanza e la presenza di pace-maker in quanto non vi sono dati disponibili sulla sicurezza dell'uso del FibroScan[®] in tali casi. Molte condizioni possono influenzare i valori di stiffness epatica, sovrastimando il reale stadio di fibrosi: epatite acuta, flares epatitici, colestasi, steatosi o insufficienza cardiaca. Di contro, bassi livelli di transaminasi possono determinare una sottostima dell'entità della fibrosi epatica.

E' stata dimostrata una buona correlazione tra i valori di stiffness epatica, in accordo allo score METAVIR di fibrosi (F0 = no fibrosi; F1 = fibrosi portale senza setti; F2 =

fibrosi portale e pochi setti; F3 = numerosi setti senza cirrosi; F4 = cirrosi) e gli stadi di fibrosi epatica istologicamente documentati in pazienti con epatite cronica C, B, co-infezione HIV/HCV, HCV/post trapianto epatico, NAFLD, epatite alcolica e cirrosi biliare primitiva. La misurazione della stiffness trova la più importante applicazione nel differenziare la cirrosi dagli stadi più bassi di fibrosi epatica. La performance diagnostica del FibroScan® nei pazienti con epatite cronica C sembra essere sovrapponibile a quella dei pazienti con epatopatia a varia eziologia. Per semplificare l'interpretazione dei risultati, riportiamo alcuni dati di una metanalisi su 50 studi condotti in pazienti con epatopatia cronica (92), secondo i quali il valore di cut-off ottimale per la diagnosi di fibrosi significativa ($F \geq 2$) è pari a 7,65 kPa, per la diagnosi di cirrosi ($F = 4$) è pari a 13,1 KPa. E' bene ricordare che nell'interpretazione dei risultati la sensibilità e specificità della metodica aumentano se si considerano i valori di cut-offs specifici per le varie patologie.

In pazienti HCV-positivi ricordiamo alcuni valori di cut-offs ottimali: 7,1 e 8,7 per $F \geq 2$, 9,5 e 9,6 per $F \geq 3$, 12,5 e 14,5 kPa per $F = 4$, con una sensibilità di 86 e 87% ed una specificità di 96 e 91% per la diagnosi di cirrosi. Nel nostro studio la fibrosi epatica avanzata (FEA) (fibrosi avanzata e cirrosi) è stata definita come una SE mediana di 9,5 kPa. Come già pubblicato, questo valore limite è fortemente correlato con lo stadio di fibrosi F3 secondo lo score di METAVIR, sia in pazienti HCV mono-infetti che in pazienti HIV/HCV co-infetti (93,94).

Le immagini riportate sono state concesse dalla ditta EchoSens™.

OBIETTIVI DELLO STUDIO

- 1) Valutare la prevalenza di fibrosi epatica ed i fattori di rischio ad essa correlata, mediante l'impiego di metodi non invasivi: FibroScan[®] e marcatori biomorali di fibrosi, nei pazienti HIV mono-infetti e co-infetti con virus epatitici in terapia antiretrovirale e non, afferenti presso l'Unità Operativa di Malattie Infettive dell'Università degli Studi di Palermo e nei pazienti HCV mono-infetti afferenti presso l'ambulatorio epatologico del Dipartimento di Medicina Clinica e Patologie Emergenti dell'Università degli Studi di Palermo.
- 2) Valutare la prevalenza della steatosi epatica ed i fattori di rischio ad essa correlata, in un sottogruppo di pazienti HIV mono- e co-infetti con il virus dell'epatite C, tramite esame ecografico.
- 3) Valutare se la steatosi epatica correlava con la presenza di fibrosi (misurata come stiffness epatica, tramite FibroScan[®]) o con gli stadi più avanzati di fibrosi.

MATERIALI E METODI

Popolazione in studio

Tra Settembre 2008 e Ottobre 2009, sono stati arruolati in questo studio i pazienti HIV mono-infetti e HIV/HCV co-infetti afferenti presso il Centro AIDS dell'Università degli Studi di Palermo, così come i pazienti HCV mono-infetti afferenti consecutivamente presso l'ambulatorio di epatologia del Dipartimento di Medicina Clinica e Patologie Emergenti dell'Università degli Studi di Palermo.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad elastografia transitoria, per la valutazione non invasiva della FE.

In un sottogruppo di pazienti HIV-positivi, costituito da pazienti precedentemente arruolati per la valutazione non invasiva della fibrosi epatica e da pazienti arruolati tra Gennaio 2009 ed Agosto 2010 è stata effettuata una ecografia epatica per la valutazione non invasiva della steatosi epatica (tutti i pazienti avevano effettuato l'elastografia transitoria).

Informazioni su età, sesso, fattori di rischio per le infezioni da HCV e HIV, l'esposizione cumulativa e gli NRTI, NNRTI, PI e specifici farmaci antiretrovirali nell'ambito di ciascuna classe, sono state registrate in un database progettato per questo studio.

L'esposizione alla HAART è stata classificata in 0 (nessuna HAART) 1: < un anno; 2: > un anno. L'ipertensione arteriosa è stata diagnosticata in conformità con le linee guida della Società Europea dell'Ipertensione Arteriosa e della Società Europea di Cardiologia (24). Lo stato di fumatore è stato inoltre valutato. La sindrome metabolica (SM) è stata diagnosticata secondo la definizione del "National Cholesterol Education Program"

(25). La lipodistrofia è stata definita come la presenza di alterazioni del grasso corporeo sotto-cutaneo, perdita e / o aumento del grasso (addome o gobba di bufalo), riconosciuto dai pazienti e confermato dai medici.

Per tutti i pazienti infetti da HIV sono stati valutati il numero assoluto di Ly T CD4 + ed i livelli plasmatici di HIV-RNA. Nei pazienti con infezione da HCV, HCV genotipo e livelli plasmatici di HCV-RNA sono stati valutati. Inoltre, al baseline sono stati dosati: emocromo, alanino-aminotransferasi (ALT), aspartato-aminotransferasi (AST), γ -glutamyl transferasi (γ GT), colesterolo totale (Col-T), colesterolo veicolato da lipoproteine ad alta densità (Col-HDL) e lipoproteine a bassa densità (Col-LDL), trigliceridi (TG) e glicemia. Il rapporto TG/HDL è stato considerato un marcatore surrogato di insulino-resistenza (IR). Attraverso interviste al paziente è stata valutata l'assunzione di alcool > 20 g/die, al momento dello studio. Diabete mellito (DM) o alterata glicemia a digiuno (IFG) sono stati definiti secondo i criteri del comitato di esperti per la Diagnosi e Classificazione del Diabete Mellito (95). I pazienti con scompenso epatico acuto, carcinoma epatocellulare o epatite cronica B sono stati esclusi. Lo studio è conforme alle linee guida etiche del 1975 secondo la Dichiarazione di Helsinki. I pazienti sono stati arruolati, dopo che era stato ottenuto il consenso informato scritto.

Valutazione della fibrosi epatica

La fibrosi epatica è stata valutata da un singolo operatore (certificato dal manifatturiere) (la sottoscritta) utilizzando l'elastografia transitoria (FibroScan[®]; EchoSens[™], Paris, France). L'esame veniva effettuato in accordo alle raccomandazioni del manifatturiere e veniva considerato valido se il range-interquartile era inferiore ad un terzo della misurazione mediana e se la percentuale di successo era almeno del 60%. Per la

diagnosi di fibrosi epatica avanzata (FEA) (fibrosi avanzata e cirrosi) abbiamo utilizzato il cut-off di 9,5 kPa, risultato fortemente correlato con lo stadio di fibrosi F3 secondo lo score di METAVIR, sia in pazienti HCV mono-infetti che in pazienti HIV/HCV co-infetti (93,94). I cut-offs dei valori di stiffness utilizzati, erano in accordo a quelli ottenuti negli studi di Castera e coll. (96) e de Ledinghen e coll. (93,94).

La fibrosi epatica è stata valutata anche biologicamente utilizzando 2 diversi marcatori biomorali ben convalidati, l'indice del rapporto AST/piastrine (APRI) e l'indice FIB-4. L'APRI è stato calcolato come segue: $AST / \text{limite superiore del normale (ULN)} \times 100 / \text{conta piastrinica (} 10^9/L)$ (97,98). Il FIB-4 indice è stato calcolato come segue: $\text{età} \times AST [UI/L] / [(\text{conta piastrinica } [10^9/L]) \times (ALT [UI/L])^{1/2}]$ (89). La prevalenza di FEA è stata stimata utilizzando come riferimento un indice FIB-4 > 3.25 e un indice APRI > 1,5 (89,97).

Valutazione della steatosi epatica

L'ecografia epatica è stata eseguita in un sottogruppo di pazienti HIV mono- e co-infetti con il virus dell'epatite C, la mattina, dopo un digiuno di almeno 10 ore da due operatori, utilizzando un sistema Philips real-time 5.000 HDI con un sonda multi frequenza convessa da 2-5 MHz. L'eco-pattern del parenchima epatico è stato identificato come i) normale (N), quando gli echi erano distribuiti in modo omogeneo e l'ecogenicità del fegato non era aumentato rispetto a quello del parenchima del rene destro, ii) "brigh liver" pattern (BL), caratterizzato da numerosi, fini echi, uniformemente distribuiti, di ampiezza elevata e ecogenicità aumentata rispetto al parenchima del rene destro, iii) "coarse" pattern(C), rappresentato dalla presenza di echi non omogenei ed irregolari, senza attenuazione del fascio posteriore (99); iv) "coarse nodular" pattern (CN), quando noduli multipli, distinti debolmente ipoecogeni (<6 mm

di diametro) erano ampiamente diffuse sul parenchima epatico (100). Il BL è il caratteristico eco-pattern di steatosi epatica (SE). Il BL è stato graduato come segue: Grado 1 (steatosi lieve), caratterizzata da ecogenicità aumentata; Grado 2 (steatosi moderata), associata da un'aumentata ecogenicità e modesta attenuazione del fascio posteriore con alterata visualizzazione dei vasi intraepatici e diaframma; Grado 3 (grave steatosi) con un marcato aumento della ecogenicità e marcata attenuazione posteriore del fascio con conseguente impossibilità di visualizzare i vasi intraepatici, il diaframma e la parte posteriore del lobo destro del fegato.

Analisi statistica

Quando la distribuzione dei dati era gaussiana, i valori sono stati espressi come media \pm deviazione standard e le loro differenze sono state calcolate utilizzando il test t-Student, in caso contrario, i dati venivano espressi come mediana e range ed analizzati utilizzando il test U Mann-Whitney. Il Fisher's exact test, il test χ^2 , il test del χ^2 Maentel Haenszel e le correlazioni di Spearman e di Pearson sono stati utilizzati laddove opportuno. La regressione lineare multipla è stata utilizzata per studiare l'associazione tra l'aumento dei valori di SE e le variabili statisticamente significative all'analisi univariata. Tutte le analisi sono state effettuate utilizzando il pacchetto software SPSS (versione 13.0, Chicago, IL, USA). Le variabili risultate significative all'equazione logistica erano selezionate ed analizzate con una procedura "step-wise".

RISULTATI

Popolazione in studio

Un totale di 201 pazienti in regolare follow-up presso entrambi i nostri Centri sono stati arruolati nello studio. In 11 pazienti (4 HIV mono-infetti, 6 HCV mono-infetti e 1 HIV/HCV co-infetto) una valutazione valida elastometrica non poteva essere ottenuta a causa dell'obesità, quindi 190 pazienti sono stati inclusi in questo studio. Sono stati studiati 137 pazienti con infezione da HIV, di cui 71 HIV mono-infetti, 66 HIV /HCV co-infetti e 53 pazienti con infezione da HCV. Le caratteristiche dei pazienti al momento della elastografia transitoria sono riportate nella Tabella 1.

I pazienti HIV-infetti erano significativamente più giovani rispetto a quelli con infezione da HCV ($P < 0.002$). L'indice di massa corporea (BMI) era significativamente maggiore nei pazienti HCV mono-infetti e che nei pazienti HIV mono e HIV/HCV co-infetti ($P < 0.002$). Il fattore di rischio più frequente di contaminazione per HCV era l'uso di droghe per via endovenosa nei co-infetti vs HCV mono-infetti ($P < 0.0001$), la trasfusione di sangue nei pazienti HCV mono-infetti vs i co-infetti ($P < 0.0001$). La maggior parte dei pazienti HIV mono- (80.2%) e HIV/HCV co-infetti (90,9%) erano in HAART. Tuttavia, solo il 62% degli HIV mono-infetti e il 68% dei pazienti HIV/HCV co-infetti avevano un HIV-RNA inferiore a < 47 copie / mL. Inoltre, il 20% dei pazienti co-infetti era in HAART senza compenso virologico, nel 50% di essi la compliance era bassa e i livelli di Ly CD4 + erano inferiori a 400 cellule/mm³. I pazienti co-infetti erano più spesso infettati da HCV genotipo 3 (13%) rispetto ai pazienti con infezione da HCV (30.3%) ($P < 0.03$).

L'ecografia epatica è stata effettuata complessivamente a 118 pazienti HIV-positivi, tra questi 57 erano HIV mono-infetti e 61 HIV/HCV co-infetti, in tutti i pazienti era nota la

stiffness epatica. Le caratteristiche dei pazienti al momento dell'esame ecografico sono riportate nella tabella 2. Nessuna differenza significativa è stata trovata tra l'età media e i valori di BMI nei pazienti HIV mono- e co-infetti. La maggior parte dei pazienti HIV mono- e HIV/HCV co-infetti, 46 (80%) e 53 (87%), rispettivamente, era in HAART. La durata dell'esposizione HAART era significativamente più lunga nei co-infetti rispetto ai pazienti HIV mono-infetti ($P < 0.03$). IGF/ DM erano significativamente più frequenti nei co-infetti rispetto ai pazienti HIV mono-infetti ($P < 0.002$), analogamente la lipodistrofia ($P < 0.004$). Nessuna differenza è stata trovata tra il numero dei pazienti HIV mono- e HIV/HCV co-infetti e la sindrome metabolica.

La tabella 3 mostra i principali parametri ematologici e virologici nei tre gruppi in studio. I livelli sierici di transaminasi sono risultati significativamente più elevati nei pazienti HCV mono- che nei pazienti HIV/HCV co-infetti e HIV mono-infetti ($P < 0.02$). I livelli sierici di AST, ALT e γ GT erano significativamente più elevati nei pazienti HIV/HCV co-infetti rispetto ai pazienti mono-infetti con HCV ($P < 0.0001$). Solo i livelli di γ GT erano più elevati nei pazienti HIV/HCV co-infetti rispetto ai pazienti con infezione da HCV ($P < 0.01$). I livelli di TG erano significativamente più alti nei pazienti HIV mono- e co-infetti rispetto ai pazienti HCV mono-infetti ($P < 0.004$).

La tabella 4 mostra i principali parametri ematologici e virologici nel sottogruppo HIV-positivo in studio. In tutti i pazienti co-infetti HCV l'HCV-RNA era dosabile e in 44 pazienti l'HCV-RNA era > 700.000 UI/mL. I livelli sierici di ALT e AST erano significativamente più elevati nei co-infetti rispetto ai pazienti HIV mono-infetti ($P < 0.0001$). Col-T, Col-LDL e TG erano più elevati negli HIV mono rispetto agli HIV/HCV co-infetti ($P < 0.0001$).

Valutazione della stiffness epatica

Nella popolazione complessiva la SE misurata con l'elastometria transitoria, variava da 3.2 - 48.8 kPa. In nove pazienti con co-infezione HIV/HCV, HCV-RNA non era rilevabile, pertanto i suddetti pazienti sono stati esclusi dall'analisi, che è stata quindi effettuata nei rimanenti 57 pazienti co-infetti. Tuttavia, la SE dei pazienti co-infetti con HCV-RNA non dosabile era inferiore a quella del restante gruppo di co-infetti.

La tabella 5 mostra la distribuzione dei valori misurati di SE in tutti e tre i gruppi in studio.

I pazienti co-infetti avevano valori più elevati di SE rispetto ai pazienti mono-infetti ($\chi^2_{MH} = 4$, $P < 0.04$). Nel gruppo di pazienti con co-infezione HIV/HCV la $SE \geq 9.5$ kPa (50.9%) era più frequente rispetto ai pazienti HCV e HIV mono-infetti (28.3%) ($\chi^2 = 5$, $P < 0.03$). A questo riguardo, il 60% dei pazienti co-infetti in HAART in assenza di soppressione virologica, ha mostrato $SE \geq F3$. I singoli valori di SE aumentavano progressivamente se si consideravano i gruppi con infezione da HIV, HCV e co-infezione HIV/HCV ($\rho = 0.5$; $P < 0.0001$) (Figura 6).

Complessivamente all'analisi multivariata (regressione lineare multipla) le variabili significativamente associate con FEA erano: i valori di AST ($\beta = 0.47$, $P < 0.0001$) e la co-infezione HIV/HCV ($\beta = 0.25$, $P < 0.002$). Per meglio comprendere quali variabili fossero associate con SE nei pazienti HIV mono- e co-infetti, abbiamo anche effettuato una regressione lineare multipla tra questi due gruppi che ha evidenziato come la FEA correlava positivamente con i livelli sierici di AST ($\beta = 0.34$, $P < 0.0001$) e con la presenza di co-infezione HIV/HCV ($\beta = 0.4$, $P < 0.0001$), correlava negativamente con i valori più bassi dei Ly CD4+ ($\beta = -0.21$, $P < 0.003$).

I valori mediani di APRI e FIB-4 sono risultati significativamente più elevati nei pazienti HCV mono- e co-infetti con HIV rispetto ai pazienti HIV mono-infetti. Non si sono evidenziate differenze significative tra le mediane di APRI e FIB-4 nei pazienti HCV mono- e co-infetti (Tabella 6). I valori mediani di SE erano significativamente più bassi nei pazienti HIV mono-infetti che nei pazienti HCV mono- e HIV/HCV co-infetti ($P < 0.0001$). I valori mediani di SE nei pazienti HIV/HCV co-infetti erano significativamente più elevati rispetto a quelli dei pazienti con infezione da HCV ($P < 0.05$).

Le correlazioni tra SE e i valori di APRI ed SE e i valori di FIB-4 valori erano statisticamente significative ($r = 0.60$, $P < 0.0001$ e $r = 0.64$, $P < 0.0001$, rispettivamente). Quando le correlazioni sono state effettuate secondo i tre valori di cut-off di SE, abbiamo trovato una correlazione significativa solo per valori di $SE \geq 9.5$ kPa ($r = 0.50$, $P < 0.0001$ vs APRI ed $r = 0.53$, $P < 0.0001$ vs FIB -4) (Tabella 7).

Correlazione tra LS e fattori di rischio studiati

La tabella 8 mostra i fattori associati con SE nei tre gruppi in studio.

Nessuna correlazione tra i parametri studiati ed SE è stata trovata nel gruppo dei pazienti HIV mono-infetti. Nei pazienti con infezione da HCV, SE correlava positivamente con l'assunzione di alcol > 20 g/die ($P < 0.001$) e livelli sierici di AST ($P < 0.0001$), negativamente con il numero di piastrine ($P < 0.0001$) e i livelli di colesterolo ($P < 0.03$). I valori di APRI e FIB-4 sono risultati significativamente associati con SE sia in pazienti HCV mono- che HIV/HCV co-infetti ($P < 0.0001$).

In pazienti HIV/HCV co-infetti la SE è risultata significativamente correlata con l'assunzione di alcol ($P < 0.04$) i livelli di AST ($P < 0.0001$) e bassa conta di Ly CD4 + ($P < 0.02$). La SE era negativamente correlata con la conta piastrinica ($P < 0.0001$).

BMI, presenza di diabete o IFG, HCV e HIV-viremia non erano significativamente correlati con SE in tutti e tre i gruppi di studio. Inoltre, non vi era alcuna correlazione significativa tra SE ed esposizione o durata di esposizione ad HAART. Non vi era alcuna correlazione significativa tra SE ed esposizione cumulativa a ciascuna classe di farmaci antiretrovirali (NRTI, NNRTI, PI) e di analoghi dideossinucleosidi specifici (didanosina, stavudina, zidovudina).

Prevalenza del BL e associazione con i fattori di rischio studiati

Nell'intero sottogruppo HIV- positivo sottoposto ad esame ecografico del fegato, il BL era presente in 62 (52.5%) pazienti, di cui 31/57 (54.4%) erano HIV mono- e 31/61 (50.8%) HIV/HCV co-infetti ($P =$ non significativa).

Il BL di grado 2 / 3 era presente solo in 10 (16%) pazienti, (7 HIV mono- e 3 co-infetti). La tabella 9 mostra l'associazione tra BL e i fattori di rischio analizzati nei pazienti HIV mono- e co-infetti col virus dell'epatite C, all'analisi univariata. Quando abbiamo analizzato i pazienti HIV mono-infetti, il BL era associato con lipodistrofia ($P < 0.02$), sindrome metabolica ($P < 0.01$), valori più elevati di Col-T, ($P < 0.003$), TG ($P < 0.002$), ALT ($P < 0.04$), γ GT ($P < 0.0002$) e rapporto TG/HDL ($P < 0.001$). Inoltre, il BL era associato ad HIV-RNA non rilevabile ($P < 0.001$), CD4 + nadir < 200 cellule/mL ed esposizione cumulativa alla HAART per più di 1 anno ($P < 0.01$).

Nei pazienti con co-infezione HIV/HCV, il BL era associato a dislipidemia ($P < 0.01$), lipodistrofia ($P < 0.003$), sindrome metabolica ($P < 0.03$), valori più elevati di Col-T ($P < 0.04$), TG ($P < 0.02$). Un più elevato rapporto TG/HDL ($P < 0.05$) ed una più lunga durata della infezione da HIV ($P < 0.05$) erano associati a BL.

Abbiamo riscontrato una buona correlazione tra lo score ecografico di fibrosi (C, CN echo-pattern) e lo score di stiffness epatica ($\rho = 0.24$; $P < 0.02$).

Nessuna associazione è stata osservata tra la presenza di BL e fibrosi epatica o tra il grado di BL e FEA (misurata come SE).

DISCUSSIONE

I nostri risultati, in accordo con altri studi, confermano che la fibrosi epatica è più severa nei pazienti co-infetti rispetto agli HIV e HCV mono-infetti (101,102).

Nei pazienti con co-infezione la fibrosi avanzata correlava con una più bassa conta di Ly T CD4+, supportando quanto già emerso in letteratura circa il maggior rischio per tali pazienti di andare in contro a cirrosi e ad insufficienza epatica, soprattutto in presenza di livelli di Ly T CD4+ < 200 cell./ μ L e consumo di alcol (103,104).

L'associazione tra la fibrosi epatica avanzata e la bassa conta di Ly T CD4+, suggerisce che la risposta alla HAART, misurata in termini di risposta immuno-virologica, determina l'evoluzione della malattia epatica e che nei pazienti co-infetti la HAART, con buona risposta immunologica e virologica, può rallentare l'evoluzione della fibrosi epatica.

Abbiamo valutato, inoltre, se l'esposizione alla HAART potesse essere responsabile della progressione della fibrosi epatica nella nostra popolazione, a causa della potenziale epatotossicità. Nessuna correlazione tra esposizione alla HAART, durata dell'esposizione alla HAART, esposizione cumulativa alle diverse classi di farmaci e ai singoli farmaci dideossinucleosidici (didanosina, stavudina, zidovudina), è stata evidenziata in questo studio, suggerendo che la HAART nella nostra popolazione potrebbe non giocare un ruolo sfavorevole nella progressione della fibrosi. Inoltre, la presenza della correlazione tra FEA e bassi livelli di Ly T CD4+ e la mancata correlazione di FEA con la durata di esposizione alla HAART, suggeriscono che gli effetti protettivi immunologici della HAART prevalgano sull'epatotossicità HAART correlata. La buona aderenza alla terapia antiretrovirale, quando indicata, è importante per ridurre la progressione della fibrosi epatica nei pazienti co-infetti con HIV/HCV.

La presenza all'analisi univariata in entrambi i gruppi di pazienti con infezione da HCV, di una correlazione tra FEA ed assunzione di alcol, indica che tali pazienti dovrebbero modificare abitudini e stili di vita negativi, che potrebbero favorire la progressione della fibrosi.

Sono stati esclusi dall'analisi tutti i pazienti co-infetti con HCV-RNA non rilevabile, ma osservando i risultati del FibroScan[®], essi presentavano valori di stiffness epatica corrispondenti agli stadi di fibrosi F0/F1 METAVIR, suggerendo che la presenza dell'HCV sia importante nel condizionare la fibrosi epatica e che il trattamento dell'epatite da virus C sia mandatorio nei pazienti co-infetti.

La valutazione della fibrosi epatica tramite i due marcatori biomorali di fibrosi non era del tutto sovrapponibile a quella effettuata con l'elastografia transitoria. A tal proposito i risultati ottenuti con APRI e FIB-4 erano in accordo con la stiffness epatica per gli stadi più avanzati di fibrosi, non per gli stadi di fibrosi leggera/significativa, suggerendo che al fine di un corretto inquadramento diagnostico dei gradi intermedi di fibrosi sia necessaria la diagnosi istologica.

Abbiamo deciso di estendere lo studio alla valutazione della prevalenza e fattori di rischio della steatosi epatica (corrispondente al "bright liver" echo pattern) e all'eventuale impatto della steatosi sulla progressione della fibrosi epatica in un sottogruppo di pazienti con infezione da HIV.

Abbiamo riscontrato un'elevata prevalenza (54,4%) di steatosi nei pazienti HIV mono-infetti, non selezionati per ipertransaminasemia, malattie epatiche note o complicanze metaboliche. E' difficile confrontare tale risultato con quelli riportati in altri studi in quanto la prevalenza della steatosi dipende strettamente dalle caratteristiche della popolazione studiata e dalle metodiche utilizzate (vedi pag 14). In uno studio ecografico sulla valutazione ecografica della NAFLD in pazienti HIV mono-infetti, Crum-

Cianflone e coll. (82) hanno escluso dallo studio i pazienti con significativa assunzione di alcol, ciò in parte potrebbe spiegare la più bassa prevalenza riportata in tale studio (31%). Numerosi fattori sono risultati associati alla steatosi all'analisi univariata. Alterazioni biochimiche quali alti livelli di Col-T e TG erano associate alla steatosi epatica analogamente a quanto riscontrato in altri studi effettuati nei pazienti con co-infezione HIV/HCV e nella popolazione generale (82, 105,106).

La sindrome metabolica era associata alla presenza di steatosi, come precedentemente dimostrato nella popolazione generale e in pazienti con infezione da virus C mono- e co-infetti con HIV (15,107).

Tra i fattori relati all'infezione da HIV, si è evidenziata un'associazione tra l'assenza in circolo di HIV-RNA e presenza di steatosi epatica. La non rilevabilità della carica virale HIV potrebbe essere considerata un surrogato di uso di HAART e quindi potrebbe suggerire indirettamente che la HAART possa giocare un ruolo nella patogenesi della steatosi; simili considerazioni sono state riportate in uno studio condotto su una popolazione di pazienti HIV/HCV co-infetti (108). Anche la lipodistrofia era associata a steatosi nei pazienti HIV mono- e co-infetti.

Abbiamo osservato nei pazienti HIV mono-infetti un'associazione tra la durata di esposizione alla HAART > 1 anno e la presenza del BL. Tale osservazione insieme ai segni indiretti di esposizione ad HART, come la lipodistrofia, gli alti livelli di TG e la non rilevabilità della carica virale HIV, sembrano corroborare la relazione tra esposizione ad HAART e BL. Cionondimeno quando analizzavamo l'associazione tra HAART ed esposizione > 1 anno alle singole classi di farmaci antiretrovirali e agli specifici analoghi dideossinucleosidici, nessuna associazione è stata riscontrata. Ciò probabilmente è conseguenza del piccolo numero del campione in studio. L'alta prevalenza di steatosi epatica nei pazienti HIV mono-infetti, rispetto ai pazienti

HIV/HCV co-infetti era inattesa. Ciò probabilmente è conseguenza del limite della metodica ecografica nel discriminare la steatosi epatica dalla fibrosi, determinando in questo caso una probabile sottostima della prevalenza nei pazienti co-infetti, nonostante la buona correlazione ottenuta tra lo score di stiffness e lo score ecografico di fibrosi ($P < 0.02$). Non abbiamo trovato nessuna correlazione tra BL e i fattori associati ad HCV, quali HCV-RNA e genotipo 3, probabilmente a causa della piccola percentuale di pazienti infetti dal genotipo 3.

Per quanto riguarda il rapporto tra steatosi e fibrosi, nel sottogruppo di pazienti infetti da HIV sembra prevalere la steatosi semplice, infatti nessuna associazione è stata riscontrata tra BL e fibrosi o tra BL score e fibrosi avanzata (misurata come stiffness epatica).

Conclusioni

Sono stati condotti numerosi studi al fine di identificare i fattori coinvolti nella progressione della fibrosi epatica e sono stati riportati risultati contrastanti circa l'impatto della HAART sulla fibrosi epatica. I risultati del nostro studio mostravano che la fibrosi epatica severa prevaleva nei pazienti HIV/HCV co-infetti rispetto a quelli HCV e HIV mono-infetti. Nei pazienti con co-infezione la fibrosi epatica avanzata correlava con una più bassa conta di Ly T CD4+. Nessuna correlazione è stata trovata tra la fibrosi avanzata ed esposizione alla HAART, durata di esposizione alla HAART ed esposizione cumulativa agli inibitori nucleosidici, non-nucleosidici della trascrittasi inversa, inibitori delle proteasi e specifici dideossinucleosidici, suggerendo che l'effetto immunologico protettivo della HAART sulla progressione della fibrosi epatica, prevale rispetto alla sua epatotossicità. Inoltre la steatosi epatica, espressa come BL, era comune nel sottogruppo HIV-positivo, interessando circa la metà dei pazienti. Non è stata

evidenziata alcuna correlazione tra la steatosi epatica e la fibrosi epatica o la severità della stessa, suggerendo che nel nostro sottogruppo di pazienti con infezione da HIV prevale la steatosi semplice. Ulteriori studi sono necessari al fine di valutare l'impatto della steatosi sulla progressione della malattia epatica nella popolazione di pazienti HIV-positivi.

BIBLIOGRAFIA

1. Operskalski EA, Kovacs A. HIV/HCV Co-infection: Pathogenesis, Clinical Complications, Treatment, and New Therapeutic Technologies. *Curr HIV/AIDS* 2011; 8: 12-22.
2. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents, Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and Adolescents. Department of Health and Human Services. 2009; 1–161.
3. Mocroft A, Soriano V, Rockstroh J, et al., EuroSIDA Study Group. Is there evidence for an increase in the death rate from liver-related disease in patients with HIV? *AIDS* 2005; 19: 2117-2125.
4. Benhamou Y, Bochet M, Di Martino V, et al. Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfecting patients. The Multivirc Group. *Hepatology* 1999; 30: 1054-1058.
5. Pineda JA, Romero-Gómez M, Díaz-García F, et al., Grupo Andaluz para el Estudio de las Enfermedades Infecciosas; Grupo Andaluz para el Estudio del Hígado. HIV coinfection shortens the survival of patients with hepatitis C virus-related decompensated cirrhosis. *Hepatology* 2005; 41: 779-789.
6. Martin-Carbonero L, Benhamou Y, Puoti M, et al. Incidence and predictors of severe liver fibrosis in HIV-infected patients with chronic hepatitis C: a European collaborative study. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 128–133.
7. Dinh MH, Stosor V, Rao SM, et al. Cryptogenic liver disease in HIV-seropositive men. *HIV Medicine* 2009; 10: 447–453.
8. Castellares C, Barreiro P, Martin-Carbonero L, et al. Liver cirrhosis in HIV-infected patients: prevalence, aetiology and clinical outcome. *J Viral Hepat* 2008; 15: 165–172.
9. Grunfeld C, Pang M, Doerrler W, et al. Lipids, lipoproteins, triglyceride clearance, and cytokines in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74: 1045–52.
10. Kedzierska K, Crowe S, Turville S, Cunningham A. The influence of cytokines, chemokines and their receptors on HIV-1 replication in monocytes and macrophages. *Rev Med Virol* 2003; 13: 39-56.
11. Piroth L. Liver Steatosis in HIV-infected Patients. *AIDS Reviews* 2005; 7: 197-209.
12. Amorosa V, Synnestvedt M, Gross R, et al. A tale of 2 epidemics: the intersection between obesity and HIV infection in Philadelphia. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 39: 557-61.
13. Lemoine M, Barbu V, Girard PM, et al. Altered hepatic expression of SREBP-1 and PPAR gamma is associated with liver injury in insulin-resistant lipodystrophic HIV-infected patients. *AIDS* 2006:387-95.
14. Brown TT, Li X, Cole SR, et al. Antiretroviral therapy and the prevalence and incidence of diabetes mellitus in the multicenter AIDS cohort study. *Arch Intern Med* 2005; 165: 1179-84.
15. Machado MV, Oliviera AG, Cortez-Pinto H. Hepatic steatosis in patients co-infected with human immunodeficiency virus/hepatitis C virus: a meta-analysis of the risk factors. *Hepatology*. 2010; 52: 71-8.

16. Lemoine M, Barbu V, Girard PM, *et al.* Altered hepatic expression of SREBP-1 and PPAR gamma is associated with liver injury in insulin-resistant lipodystrophic HIV-infected patients. *AIDS* 2006;387-95.
17. Akhtar MA, Mathieson K, Arey B, *et al.* Hepatic histopathology and clinical characteristics associated with antiretroviral therapy in HIV patients without viral hepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2008; 20: 1194-204.
18. Ingiliz P, Valantin MA, Duvivier C, *et al.* Liver damage underlying unexplained transaminase elevation in human immunodeficiency virus-1 monoinfected patients on antiretroviral therapy. *Hepatology* 2009; 49:436-42.
19. Poniachik J, Bernstein DE, Reddy KR, *et al.* The role of laparoscopy in the diagnosis of cirrhosis. *Gastrointest Endosc* 1996; 43: 568-571.
20. Piccinino F, Sagnelli E, Pasquale G, Giusti G. Complications following percutaneous liver biopsy. A multicentre retrospective study on 68,276 biopsies. *J Hepatol* 1986; 2: 165-173.
21. Montalto G, Soresi M, Carroccio A, *et al.* Percutaneous liver biopsy: a safe outpatient procedure? *Digestion* 2001; 63: 55-60.
22. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier C, Mal F, Christidis C, Ziol M, Poulet B, Kazemi F, Beaugrand M, Palau R. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol* 2003; 29: 1705-1713.
23. Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A, Christidis C, Mal F, Kazemi F, de Lédinghen V, Marcellin P, Dhumeaux D, Trinchet JC, Beaugrand M. Non-invasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005; 41: 48–54.
24. Weber R, Sabin CA, Friis-Moller N, *et al.* Liver-related deaths in persons infected with the human immunodeficiency virus: the D:A:D study. *Arch Intern Med* 2006;166:1632–1641.
25. Alter MJ. Epidemiology of viral hepatitis and HIV co-infection. *J Hepatol.* 2006;44:6-9.
26. De Luca A, Bagarini R, Cozzi A, *et al.* Coinfection With Hepatitis Viruses and Outcome of Initial Antiretroviral Regimens in Previously Naive HIV-Infected Subjects. *Arch Intern Med.* 2002;162:2125-2132.
27. Kramer JR, Giordano TP, Soucek J, *et al.* Hepatitis C co-infection increases the risk of fulminant hepatic failure in patients with HIV in the HAART era.. *J Hepatol* 2005; 42: 309–314.
28. Brau N. Chronic hepatitis C in patients with HIV/AIDS: a new challenge in antiviral therapy. *J Antimicrob Chemother* 2005;56:991-995.
29. Kim AY and Chung RT: Co-infection with HIV-1 and HCV—a one-two punch. *Gastroenterology* 2009, 137(3):795–814.
30. Kramer JR, Giordano TP, El-Serag HB. Effect of human immunodeficiency virus and antiretrovirals on outcomes of hepatitis C: a systematic review from an epidemiologic perspective. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:1321–1328.
31. Brau N, Salvatore M, Rios-Bedoya CF, *et al.* Slower fibrosis progression in HIV/HCV co-infected patients with successful HIV suppression using antiretroviral therapy. *J Hepatol* 2006;44: 47–55.
32. Qurishi N, Kreuzberg C, Luchters G, *et al.* Effect of antiretroviral therapy on liver-related mortality in patients with HIV and hepatitis C virus co-infection. *Lancet* 2003;362:1708–1713.

33. Verma S Wang, C-H, Govindarajan S, et al. Do Type and Duration of Antiretroviral Therapy Attenuate Liver Fibrosis in HIV–Hepatitis C Virus–Co-infected Patients? *Clinical Infectious Diseases* 2006;42:262-270.
34. Macias J, Giron-Gonzalez JA, Gonzalez-Serrano M, et al. Prediction of liver fibrosis in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus co-infected patients by simple non-invasive indexes. *Gut* 2006; 55: 409–414.
35. Berenguer J, Bellón JM, Miralles P, et al. Identification of liver fibrosis in HIV/HCV co-infected patients using a simple predictive model based on routine laboratory data. *J Viral Hepat* 2007; 14: 859–869.
36. Halfon P, Péñaranda G, Carrat F, et al. Influence of insulin resistance on hepatic fibrosis and steatosis in hepatitis C virus (HCV) mono-infected compared with HIV-HCV co-infected patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 30: 61-70.
37. Blanco F, Barreiro P, Ryan P, et al. Risk factors for advanced liver fibrosis in HIV-infected individuals: role of antiretroviral drugs and insulin resistance. *J Viral Hepat* 2010; In press.
38. Sulkowski MS, Thomas DL, Chaisson RE, et al. Hepatotoxicity associated with antiretroviral therapy in adults infected with human immunodeficiency virus and the role of hepatitis C or B virus infection. *JAMA* 2000;283:74–80.
39. Puoti M, Nasta P, Gatti F, et al. HIV-related liver disease: ARV drugs, co-infection, and other risk factors. *J Int Association Physicians AIDS Care* 2009;8:30–42.
40. Price JC, Thio CL. Liver disease in the HIV-infected individual. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2010; 8: 1002-1012.
41. Drake A, Mijch A, Sasadeusz J. Immune reconstitution hepatitis in HIV and hepatitis B co-infection, despite lamivudine therapy as part of HAART. *Clin Infect Dis* 2004;39:129–132.
42. Zylberberg H, Pialoux G, Carnot F, et al. Rapidly evolving hepatitis C virus-related cirrhosis in a human immunodeficiency virus-infected patient receiving triple antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 1998;27:1255–1258.
43. Puoti M, Nasta P, Gatti F, et al. HIV-related liver disease: ARV drugs, co-infection, and other risk factors. *J Int Association Physicians AIDS Care* 2009;8:30–42. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents.
44. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services. December 1, 2009; 1-161.
45. Mallal S, Phillips E, Carosi G, et al. HLA-B*5701 screening for hypersensitivity to abacavir. *N Engl J Med* 2008;358:568-579.
46. Bannister WP, Friis-Moller N, Mocroft A, et al. Incidence of abacavir hypersensitivity reactions in euro-SIDA. *Antivir Ther* 2008;13:687-696.
47. McComsey G, Walker U. Role of mitochondria in HIV lipodystrophy: insight into pathogenesis and potential therapies. *Mitochondrion* 2004;4:111-8.
48. Birkus G, Hitchcock M, Cihlar T. Assessment of mitochondrial toxicity in human cells treated with tenofovir: comparison with other nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:716-23.
49. Bauerle J, Laguno M, Mauss S, et al. Mitochondrial DNA depletion in liver tissue of patients infected with HCV: contributing effect of HIV infection? *HIV Med* 2005;6:135-9.
50. Saint-Marc T, Partisani M, Poizot-Martin I, et al. A syndrome of peripheral fat wasting (lipodystrophy) in patients receiving long-term nucleoside analogue therapy. *Aids* 1999;13:1659-67.

51. McComsey G. Update on mitochondrial toxicity of antiretrovirals and its link to lipodystrophy. *AIDS Rev* 2002;4:140-7.
52. Johri S, Alkhuja S, Siviglia G, Soni A. Steatosis-lactic acidosis syndrome associated with stavudine and lamivudine therapy. *Aids* 2000;14:1286-7.
53. Hui D. Effects of HIV protease inhibitor therapy on lipid metabolism. *Prog Lipid Res* 2003;42:81-92.
54. Núñez M. Clinical syndromes and consequences of antiretroviral-related hepatotoxicity. *Hepatology*. 2010 Sep;52(3):1143-55.
55. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999; 116: 1413-19.
56. Dam-Larsen S, Franzmann M, *et al.* Long term prognosis of fatty liver: risk of chronic liver disease and death. *Gut* 2004; 53: 750-55.
57. Teli MR, James OF, Burt AD, Bennett MK, Day CP. The natural history of nonalcoholic fatty liver: a follow-up study. *Hepatology* 1995; 22: 1714-19.
58. Postic C, Girard J. Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice. *J Clin Invest* 2008; 118:829–38.
59. Dowman JK, Tomlinson JW, Newsome PN. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *QJM*. 2010; 103: 71-83.
60. Lewis GF, Carpentier A, Adeli K, Giacca A. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocr Rev* 2002; 23:201–29.
61. Cai D, Yuan M, Frantz DF, Melendez PA, Hansen L, Lee J, *et al.* Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB. *Nat Med* 2005; 11:183–90.
62. Yuan M, Konstantopoulos N, Lee J, Hansen L, Li ZW, Karin M, *et al.* Reversal of obesity- and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of Ikkbeta. *Science* 2001; 293:1673–7.
63. Day CP. From fat to inflammation. *Gastroenterology* 2006; 130:207–10. Sell S. Heterogeneity and plasticity of hepatocyte lineage cells. *Hepatology* 2001; 33:738–50.
64. Roskams TA, Theise ND, Balabaud C, Bhagat G, Bhathal PS, Bioulac-Sage P, *et al.* Nomenclature of the finer branches of the biliary tree: canals, ductules, and ductular reactions in human livers. *Hepatology* 2004; 39:1739–45.
65. Grunfeld C, Pang M, Doerrler W, *et al.* Lipids, lipoproteins, triglyceride clearance, and cytokines in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74: 1045–52.
66. Kedzierska K, Crowe S, Turville S, Cunningham A. The influence of cytokines, chemokines and their receptors on HIV-1 replication in monocytes and macrophages. *Rev Med Virol* 2003; 13: 39-56.
67. Piroth L. Liver Steatosis in HIV-infected Patients. *AIDS Reviews* 2005; 7: 197-209.
68. Amorosa V, Synnestvedt M, Gross R, *et al.* A tale of 2 epidemics: the intersection between obesity and HIV infection in Philadelphia. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 39: 557-61.
69. Lemoine M, Barbu V, Girard PM, *et al.* Altered hepatic expression of SREBP-1 and PPAR gamma is associated with liver injury in insulin-resistant lipodystrophic HIV-infected patients. *AIDS* 2006:387-95.

70. Brown TT, Li X, Cole SR, *et al.* Antiretroviral therapy and the prevalence and incidence of diabetes mellitus in the multicenter AIDS cohort study. *Arch Intern Med* 2005; 165: 1179-84.
71. Chen D, Misra A, Garg A. Clinical review 153: Lipodystrophy in HIV-infected patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 4845-56.
72. Carr A. HIV lipodystrophy: risk factors, pathogenesis, diagnosis and management. *AIDS* 2003; 17: 141-8.
73. Garg A. Acquired and inherited lipodystrophies. *N Engl J Med* 2004;350:1220-34.
74. Liang J, Distler O, Cooper D, *et al.* HIV protease inhibitors protect apolipoprotein B from degradation by the proteasome: a potential mechanism for protease inhibitor-induced hyperlipidemia. *Nat Med* 2001;7:1327-31.
75. Murata H, Hruz P, Mueckler M. The mechanism of insulin resistance caused by HIV protease inhibitor therapy. *J Biol Chem* 2000;275:20251-4.
76. Akhtar MA, Mathieson K, Arey B, *et al.* Hepatic histopathology and clinical characteristics associated with antiretroviral therapy in HIV patients without viral hepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2008; 20: 1194-204.
77. Ingiliz P, Valantin MA, Duvivier C, *et al.* Liver damage underlying unexplained transaminase elevation in human immunodeficiency virus-1 mono-infected patients on antiretroviral therapy. *Hepatology* 2009; 49:436-42.
78. Sutinen J, Hakkinen AM, Westerbacka J, *et al.* Increased fat accumulation in the liver in HIV-infected patients with antiretroviral therapy- associated lipodystrophy. *AIDS* 2002; 16: 2183-93.
79. Moreno-Torres A, Domingo P, Pujol J, Blanco-Vaca F, Arroyo JA, Sampedro MA. Liver triglyceride content in HIV-1-infected patients on combination antiretroviral therapy studied with ¹H-MR spectroscopy. *Antivir Ther* 2007; 12:195-203
80. Hadigan C, Liebaw J, Andersen R, Holalkere NS, Sahani DV. Magnetic resonance spectroscopy of hepatic lipid content and associated risk factors in HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 46:312-7.
81. Guaraldi G, Squillace N, Stentarelli C, *et al.* Nonalcoholic fatty liver disease in HIV-infected patients referred to a metabolic clinic: prevalence, characteristics, and predictors. *Clin Infect Dis* 2008; 47:250-7.
82. Crum-Cianflone N, Dilay A, Collins G, *et al.* Nonalcoholic fatty liver disease among HIV-infected persons. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009; 50:464-73.
83. Ryan P, Blanco F, García-Gascó P, *et al.* Predictors of severe hepatic steatosis using abdominal ultrasound in HIV-infected patients. *HIV Med* 2009; 10: 53-9.
84. McGovern BH, Ditelberg JS, Taylor LE, *et al.* Hepatic steatosis is associated with fibrosis, nucleoside analogue use, and hepatitis C virus genotype 3 infection in HIV-seropositive patients. *Clin Infect Dis* 2006; 43: 365-72.
85. Cadranel J, Rufat P, Degos F. Practices of liver biopsy in France. Results of a prospective nationwide survey. *Hepatology* 2000;32:477-481.
86. Nunes D, Fleming C, Offner G, *et al.*: Noninvasive markers of liver fibrosis are highly predictive of liver-related death in a cohort of HCV-infected individuals with and without HIV infection. *Am J Gastroenterol* 2010, 105(6):1346-53.
87. Sterling RK. Role of liver biopsy in the evaluation of hepatitis C virus infection in HIV co-infection. *Clin Infect Dis* 2005; 40:270-S275.
88. Shaheen AM, Myers RP. Diagnostic accuracy of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the prediction of hepatitis C related fibrosis: a systematic review. *Hepatology* 2007: 912-921.

89. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, et al. Development of a Simple Noninvasive Index to Predict Significant Fibrosis in Patients With HIV/HCV Co-infection. *Hepatology* 2006; 43:1317-1325.
90. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, et al. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol* 2003; 29: 1705-1713.
91. Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A, et al.. Non-invasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005; 41: 48–54.
92. Friedrich-Rust M, Ong MF, Martens S, et al. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Gastroenterology*. 2008; 134: 960-74.
93. de Ledinghen V, Douvin C, Kettaneh A, et al. Diagnosis of hepatic fibrosis and cirrhosis by transient elastography in HIV /hepatitis C virus co-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006; 41: 175–179.
94. de Lédighen V, Barreiro P, Foucher J, et al. Liver fibrosis on account of chronic hepatitis C is more severe in HIV-positive than HIV-negative patients despite antiretroviral therapy. *J Viral Hepat* 2008; 15: 427-433.
95. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1:diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998; 15: 539–553.
96. Castéra L, Vergniol J, Foucher J, et al. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2005 Feb;128(2):343-50.
97. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38: 518–526.
98. Macias J, Giron-Gonzalez JA, Gonzalez-Serrano M, et al. Prediction of liver fibrosis in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus co-infected patients by simple non-invasive indexes. *Gut* 2006; 55: 409–414.
99. Saverymuttu SH, Joseph AEA, Maxwell JD. Ultrasound scanning in the detection of hepatic fibrosis and steatosis. *BMJ* 1986; 292:13-15.
100. Caturelli E, Castellano L, Fusilli S, et al. Coarse nodular US pattern in hepatic cirrhosis: risk for hepatocellular carcinoma. *Radiology* 2003; 226: 691-7.
101. Martínez-Sierra C, Arizcorreta A, Díaz F, et al. Progression of chronic hepatitis C to liver fibrosis and cirrhosis in patients co-infected with hepatitis C virus and human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 491–498.
102. Mohsen AH, Easterbrook PJ, Taylor C, et al.. Impact of human immunodeficiency virus (HIV) infection on the progression of liver fibrosis in hepatitis C virus infected patients. *Gut* 2003; 52: 1035–1040.
103. Deng LP, Gui XE, Zhang YX, et al. Impact of human immunodeficiency virus infection on the course of hepatitis C virus infection: a meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 996-1003.
104. Graham CS, Baden LR, Yu E, Mrus JM, Carnie J, Heeren T, Koziel MJ. Influence of human immunodeficiency virus infection on the course of hepatitis C virus infection: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 562-569.
105. Gaslightwala I, Bini EJ. Impact of human immunodeficiency virus infection on the prevalence and severity of steatosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2006; 44: 1026-32.

106. Machado M, Cortez-Pinto H. Non-alcoholic steatohepatitis and metabolic syndrome. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006; 9: 637-42.
107. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, *et al.* Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* 2003; 37: 917-23.
108. Monto A, Dove LM, Bostrom A, Kakar S, Tien PC, Wright TL. Hepatic steatosis in HIV/hepatitis C co-infection: prevalence and significance compared with hepatitis C mono-infection. *Hepatology* 2005; 42: 310-16.

Tabella 1 Caratteristiche demografiche della popolazione in studio

	HIV (n =71)	HCV (n = 53)	HIV/HCV (n = 66)
Età *	43.3 ± 10.3 ^a	49.7 ± 12.5	45.6 ± 12.5
Sesso maschile (%)	50 (70)	36 (67.9)	49 (74.2)
BMI (kg/m ²) *	23.6 ± 3.4 ^b	26.0 ± 3.6	22.8 ± 3.0 ^c
Fattori di rischio (%):			
Transfusione	-	17 (32.1)	4 (6.1) ^d
Rapporti sex omosessuali	21 (29.5)	-	1 (1.5)
Uso di sostanze stupefacenti e.v.	4 (5.6)	7 (13.2) ^e	41 (62.1)
Altri	-	12 (22.6)	-
Non noti	9 (12.6)	16 (30.2)	8 (12.1)
HCV genotipo 3:non3	-	7:46 ^f	20:46
HAART (%)	57 (80.2)	-	60 (90.9)
Alcol (%)	6 (8.4)	4 (7.5)	5 (7.5)
DM + IFG (%)	2 (2.8)	4 (7.5) ^g	11 (16.6)

^a $P < 0.002$ vs HCV; ^b $P < 0.002$ vs HCV; ^c $P < 0.0001$ vs HCV; ^d $P < 0.0001$ vs HCV; ^e $P < 0.0001$ vs HIV/HCV; ^f $P < 0.03$ vs HIV/HCV; ^g $P < 0.001$ vs HIV/HCV. *Media (deviazione standard). HIV: human immunodeficiency virus; HCV: hepatitis C virus; IFG: Impaired Fasting Glucose.

Tabella 2 Caratteristiche cliniche e demografiche al baseline ecografico nel sottogruppo HIV-positivo

Caratteristiche	HIV (n=57)	HIV/HCV (n=61)	P
Età*	45±9.0	45.2±5.3	ns
Sesso maschile (n, %)	38 (66)	48 (78)	ns
BMI (Kg/m ²)*	23.6±3.2	23±2.9	ns
Pazienti in HAART (n, %)	46 (80)	53 (87)	ns
Precedente tARV (anni) †	7 (0.1-17)	10 (0.1-21)	< 0.03
Alcol (n, %)	6 (10.5)	6 (9.8)	ns
DM /IFG (n, %)	2 (3.5)	14 (23)	< 0.002
Lipodistrofia (n, %)	28 (49)	42 (69)	< 0.004
Dislipidemia (n, %)	43 (75.4)	35 (57.3)	ns
CV *	92.7 ± 10	89.7 ± 7.5	ns
syndrome metabolica (n, %)	16 (28)	12 (20)	ns

HIV: human immunodeficiency virus; HCV: hepatitis C virus; BMI: Body mass index; HAART: highly active anti-retroviral therapy; tARV: anti-retroviral therapy; IFG: impaired fasting glucose; CV: circonferenza vita. *Media (deviazione standard); † mediana (range interquartile).

Tabella 3 Principali parametri ematologici e virologici nella popolazione in studio

	HIV (n = 71)	HCV (n = 53)	HIV/HCV (n = 66)
AST/ALT	1 ± 0.4	0.72 ± 0.28 ^{a,b}	0.9 ± 0.4
ALT U/L (range)	22 (7–113) ^{c,d}	75 (16–551)	56.5 (9–280) ^e
AST U/L (range)	21 (11–56) ^{f,g}	52.5 (18–209)	42.5 (14–281)
γGT IU/L (range)	33 (9–461) ^h	40.5 (10–479) ⁱ	76.5 (11–479)
Conta delle piastrine (10 ⁹ /L) ± DS	208±59	184 ± 60	173 ± 61 ^l
Col-T (mg/dL) ± DS	201±46	175 ± 28 ⁿ	171 ± 48 ^m
Col-HDL (mg/dL) ± DS	44±16	47 ± 12	44 ± 15
Col-LDL (mg/dL) ± DS	123±32	108 ± 37.5	97 ± 40 ^o
TG (mg/dL) (range)	137 (36–615)	103 (32–354) ^{p,q}	118 (49–614)
HCV-RNA (UI/mL) >700.000	-	29 (54.7)	44 (66.6)
HIV-RNA copies/mL (range)	6050 (50–700000)	-	3300 (60–1100000)
HIV-RNA < 47 copies/mL (%)	44 (62%)	-	45 (68.1%)
Conta CD4+ (cell./μL) (range)	466.5 (17–1282)	-	446 (35–1445)
CD4+ < 200 cell./μL	38/66	-	14/48

^a*P* < 0.0001 vs HIV; ^b*P* < 0.05 vs HIV/HCV; ^c*P* < 0.0001 vs HIV/HCV; ^d*P* < 0.0001 vs HCV; ^e*P* < 0.02 vs HCV; ^f*P* < 0.0001 vs HIV/HCV; ^g*P* < 0.0001 vs HCV; ^h*P* < 0.0001 vs HIV/HCV; ⁱ*P* < 0.01 vs HIV/HCV; ^l*P* < 0.002 vs HIV; ^m*P* < 0.001 vs HIV; ⁿ*P* < 0.004 vs HIV; ^o*P* < 0.0001 vs HIV; ^p*P* < 0.02 vs HIV; ^q*P* < 0.05 vs HIV/HCV.

AST: aspartato-aminotransferasi; ALT: alanino-aminotransferasi; γGT: γ-glutamyl transferasi; Col-T: colesterolo totale; HDL: high density lipoprotein; LDL: low density lipoprotein; TG: trigliceridi.

Tabella 4 Principali parametri ematologici e virologici nel sottogruppo HIV- positivo

Caratteristiche	HIV (n=57)	HIV/HCV (n=61)	P
ALT U/L*	23 (7-117)	54 (17-280)	< 0.0001
AST U/L *	23 (11-56)	41 (17-281)	< 0.0001
γGT IU/L *	33 (5-461)	84 (11-479)	< 0.0001
Conta delle piastine (10 ⁹ /L) †	206±59	168±59.5	< 0.0001
Col-T (mg/dL) †	207±49	167.3±41.6	< 0.0001
Col-HDL (mg/dL) †	42±10.5	43.8±16.4	ns
Col-T LDL(mg/dL) †*	132.7±40.6	95.2± 35.3	< 0.0001
TG (mg/dL) *	182 (49-615)	117(50-614)	< 0.0001
TG/HDL ratio †	3.9 (0.7-22.8)	3 (1-20)	ns
Genotipo 3 (n, %)	-	19 (31)	ns
Genotipo 1 (n, %)	-	29 (47.5)	ns
Genotipo non noto (n, %)	-	11 (18)	ns
HCV-RNA (UI/mL) > 700.000 (n, %)	-	44 (72)	ns
HIV-RNA copies/mL *	33000(50-700000)	1000(60-1100000)	ns
HIV-RNA < 47 copies/mL (n, %)	33 (58)	41 (67)	ns
Conta CD4+ (cell./μL)*	447(35-1093)	422(35-1208)	ns
CD4+ < 500 cell./μL (n, %)	19 (33)	15 (24)	ns
CD4+ < 200 cell./μL (n, %)	33 (58)	41 (67)	ns

AST: aspartato-aminotransferasi; ALT: alanine-aminotransferasi; γGT: γ-glutamyl transferasi; Col-T: colesterolo totale; HDL: high density lipoprotein; LDL: low density lipoprotein; TG: trigliceridi; ns: non significativo. *Mediana (range interquartile); † media (deviazione standard).

Tabella 5 Valutazione della fibrosi epatica tramite FibroScan[®] nella popolazione in studio

LS	Metavir	HIV (n=71)	HCV (n=53)	HIV/HCV (n= 57)	
< 7.1	(F0-F1)	56 (78.8)	23 (43.4)	19 (33.3)	
7.1–9.4	(F2)	11 (15.4)	15 (28.3)	9 (15.8)	
9.5–12.4	(F3)	1 (1.4)	4 (7.5)	9 (15.8)	
≥ 12.5	(F4)	3 (4.2)	11 (20.7)	20 (35.1)	$\chi^2_{MH} = 4; P < 0.04$
≥ F3		4 (5.6)	15 (28.3)	29 (50.9)	$\chi^2 = 5; P < 0.03$

Tabella 6 Valutazione della FE nella popolazione in studio tramite FibroScan® e marcatori biomorali

	HIV (n = 71)	HCV (n = 53)	HIV/HCV (n = 57)
APRI (range)	0.31 (0.1–1.6) ^{a,b}	0.93 (0.28–6.07)	0.92 (0.17–19.7)
FIB-4 (range)	0.93 (0.39–4.28) ^{c,d}	1.62 (0.47–12.6)	1.63 (0.63–23.8)
LS (range)	5.4 (3.2–26.6) ^{e,f}	7.3 (3.4–40.9) ^g	9.8 (4.3–48.8)

^a $P < 0.0001$ vs HCV; ^b $P < 0.0001$ vs HIV/HCV; ^c $P < 0.0001$ vs HCV; ^d $P < 0.0001$; ^e $P < 0.0001$ vs HCV; ^f $P < 0.0001$ vs HIV/HCV; ^g $P < 0.05$ vs HIV/HCV. APRI: aspartate aminotransferase platelet ratio index; FE: fibrosi epatica.

Tabella 7 Correlazione tra SE e valori di APRI/FIB-4 in accordo ai valori cut-offs di SE nella popolazione in studio

	LS < 7.1 KPa (n = 98)		LS 7.1–9.4 KPa (n = 35)		LS ≥ 9.5 KPa (n = 48)	
	r	P	r	P	r	P
APRI	0.01	NS	0.23	NS	0.50	< 0.0001
FIB-4	0.01	NS	0.25	NS	0.53	< 0.0001

NS: non significativo. SE: stiffness epatica.

Tabella 8 Correlazione tra SE e i parametri studiati

	HIV	HCV	HIV/HCV
	SE	SE	SE
BMI (Kg/m ²)	0.11	-0.10	0.02
HCV genotipo 3/non 3	-	-0.10	-0.26
HCV-RNA (UI/mL)	-	-	-0.26
HIV-RNA (copies/mL)	0.21	-	0.18
Durata HAART	-0.047	-	0.09
Conta CD4+ (cell./ μ L)	0.074	-	-0.32 ^d
Alcol	-0.096	0.70 ^a	0.30 ^e
Col-T (mg/dL)	-0.09	-0.32 ^b	-0.18
TG (mg/dL)	0.06	0.18	0.10
Col-HDL ratio	-0.1	0.05	-0.16
DM/IFG	-0.01	0.19	0.14
Durata infezione HCV	-	0.24	-0.02
ALT U/L	0.03	0.10	0.23
AST U/L	0.18	0.56 ^c	0.40 ^a
Conta piastrine (10 ⁹ /L)	-0.02	-0.56 ^c	-0.61 ^c
APRI score	0.04	0.70 ^c	0.50 ^c
FIB-4 score	0.06	0.75 ^c	0.60 ^c

^a $P < 0.001$; ^b $P < 0.03$; ^c $P < 0.0001$; ^d $P < 0.02$; ^e $P < 0.04$. SE: stiffness epatica.

Tabella 9 Prevalenza del BL-/BL+ echo-pattern e variabili associate, nel sottogruppo HIV-positivo

Variabili	HIV		P**	HIV/HCV		P**
	BL- n=26	BL+ n=31		BL- n=30	BL+ n=31	
Età (anni)*	44.4 ± 11.2	45.6 ± 6.7	ns	44.0 ± 6.1	45.9 ± 4.1	ns
BMI (Kg/m ²)*	23.0 ± 3.4	24.2 ± 2.9	ns	22.5 ± 2.4	23.5 ± 3.4	ns
Alcol ‡	1 (4)	5 (16)	ns	1(3.3)	5 (16)	ns
Dislipidemia ‡	16 (61)	27 (87)	ns	12 (40)	23 (74)	0.01
CV*	91.3 ± 11	94.1 ± 9	ns	88.4 ± 6	90.1 ± 8.5	ns
Lipodistrofia ‡	8 (30)	20 (64)	0.02	15 (50)	27 (87)	0.003
Sindrome metabolica ‡	3 (11.5)	13 (42)	0.02	2 (6.6)	10 (32)	0.03
Col-T (mg/dL)*	187.5 ± 34	224.1 ± 53	0.003	156.2 ± 38	178 ± 42.7	0.04
Col-HDL (mg/dL)*	44.4 ± 9.8	40.2 ± 10.8	ns	45.1 ± 17	42.65 ± 16	ns
Col-LDL (mg/dL)*	121.5 ± 36.3	142.1 ± 42.2	ns	93.4 ± 33.4	97.2 ± 37.7	ns
TG (mg/dL)†	120(62-261)	193(49-615)	0.002	103(50-380)	127(81-614)	0.02
TG/HDL ratio†	2.6(1-6.1)	4.7(0.7-22.8)	0.001	2(1-18)	3(1-20)	0.05
IFG/DM‡	1 (4)	1 (3)	ns	5 (16.6)	9 (29)	ns
ALT (U/L)†	20(7-80)	29(7-117)	0.04	50.5(17-188)	51(18-280)	ns
AST (U/L)†	21(13-38)	25(11-56)	ns	40.5(21-281)	45(22-229)	ns
γGT (U/L)†	21(9-252)	46(5-461)	0.0002	83(11-326)	91(26-479)	ns
SE (kPa)†	5.6(3.2-13.7)	6.2(3.3-26.6)	ns	9.7(4.3-48.8)	9.8(4.3-33.8)	ns
Durata infezione da HIV *	11.2 ± 5.7	12.2 ± 6.1	ns	13 ± 6	16.5 ± 7	0.05
HIV-RNA<47 cp/mL‡	9 (34.6)	24 (77.4)	0.001	20 (66.6)	21 (67.7)	ns
CD4 nadir < 200 cell/ μL‡	10 (38.4)	23 (74.2)	0.01	20 (66.6)	23 (74.2)	ns
CD4 count cell/ μL al basale†	438(169-1093)	486(35-964)	ns	407(73-1208)	444(35-1009)	ns
HAART‡	20 (77)	26 (84)	ns	25 (83.3)	28 (90.3)	ns
Precedente tARV (anni)†	5.5 (0.1-17)	8 (0.33-17)	ns	10 (0.16-18)	10 (0.42-21)	ns
esposizione tARV >1 anno‡	15 (57.7)	28 (90.3)	0.01	24 (80)	29 (93.5)	ns
PI †† (n)	11	22	ns	20¶	26§	ns
NNRTI †† (n)	10 [§]	18	ns	7¶	20¶	ns
NRTI DI ††(n)	14	25	ns	21¶	26¶	ns
AZT †† (n)	11	18	ns	14¶	23¶	ns
d4T †† (n)	5	11	ns	11**	12§	ns
ddI †† (n)	5	7	ns	5**	7§	ns
Genotipo 3‡	-	-	-	9 (30)	9 (30)	ns

BMI: Body mass index; CV: circonferenza vita; Col-T: colesterolo totale; HDL: high density lipoprotein; LDL: low density lipoprotein; TG: trigliceridi; IFG: impaired fasting glucose; DM: diabete mellito; ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; γGT: γ-glutamyl transferase; SE: stiffness epatica; HAART: highly active anti-retroviral therapy; tARV: anti-retroviral therapy; PI: protease inhibitors; NNRTI nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitors; NRTI DI: dideoxynucleoside; AZT: zidovudina; d4T: stavudina; ddI: didanosina.

*Media (deviazione standard); † mediana (range interquartile); ‡ numero di pazienti e %; § dati non disponibili per 2 pazienti; ¶ dati non disponibili per 1 paziente; ¶¶ dati non disponibili per 3 pazienti; ** dati non disponibili per 4 pazienti; †† esposizione per > 1 anno; ‡‡ analisi univariata.

Figura 6 Mediana e distribuzione della SE nei pazienti HIV, HCV, HIV/HCV positivi

