

La malattia epatica da virus C: una condizione guaribile. Terapia

Anna Licata, Antonio Craxì

Hepatitis C virus (HCV) infection is a major health problem, being currently the most common cause of end-stage liver disease worldwide. Although the conclusions of the last National Institutes of Health Consensus Development Conferences on Hepatitis C have recently been published, several important issues still remain unanswered.

The current gold standard of efficacy for treatment of naïve patients with chronic hepatitis C is the combination of pegylated-interferons (PEG-IFN) and ribavirin. The overall sustained viral response rate to these regimens is 54-56% following a 48-week course of therapy. Patients with genotype 1 infection will have a 42-51% likelihood of response to 48 weeks of therapy. Those with genotypes 2 or 3 infection will respond to 24 weeks in 78-82% of cases. Tolerability and compliance to therapy are still a problem, since about 15-20% of patients within trials and more than 25% in clinical practice withdraw from therapy. Response to antiviral treatment could be inferred not only by genotype, but also by the presence of liver steatosis/metabolic syndrome, by grading and staging at histopathology, by iron overload and finally by occult hepatitis B virus infection.

Further, IFN therapy is still under debate, regarding the preventive effect of hepatocellular carcinoma (HCC). Literature data pooling suggests a slight preventive effect of IFN on HCC development in patients with HCV-related cirrhosis. The magnitude of this effect is low and the observed benefit might be due to spurious associations. The preventive effect is more evident among sustained responders to IFN. Current evidence is sufficient to recommend IFN treatment of all patients with acute hepatitis. A later initiation of therapy yields the same likelihood of response as an early treatment. A daily induction dose during the first month is the best option of treatment. Monotherapy with PEG-IFN induces a marked reduction in staging in virological sustained responders and to a lesser degree in relapsers, but provides no benefit to non-responders after 24-48 weeks of treatment. The use of maintenance therapy in virological non-responders aiming to improve histology, should be considered experimental and of unproven benefit. Finally, even if indication to antiviral treatment is not so clear as in the HCV subjects with elevated alanine aminotransferase (ALT), the objective to eradicate HCV should be taken into account also in patients with persistently normal ALT, according to the incidence (not low) of fibrosis and disease progression in this subgroup.

(Ann Ital Med Int 2005; 20 (Suppl 1): 17S-32S)

Key words: Chronic hepatitis C; Combination therapy; Fibrosis; Genotype; Hepatitis C virus; Hepatocellular carcinoma prevention; Iron overload; Non-responders; Patients with persistently normal alanine aminotransferase; Steatosis.

Introduzione

L'infezione da virus dell'epatite C (HCV) costituisce un problema socio-sanitario sempre più rilevante, rappresentando la causa più frequente di malattia cronica di fegato, di cirrosi e di indicazione al trapianto epatico in tutto il mondo occidentale¹. In Italia il virus C, da solo o in associazione con altri fattori (alcol, virus dell'epatite B [HBV], steatosi), è presente come causa etiologica nel 60-75% delle cirrosi e degli epatocarcinomi² (HCC).

Cattedra di Gastroenterologia (Direttore: Prof. Antonio Craxì), Dipartimento Biomedico di Medicina Interna e Specialistica, Università degli Studi di Palermo

Gli autori dichiarano di non avere legami di tipo economico o professionale con industrie o organizzazioni, per i quali può configurarsi un conflitto d'interesse riguardante l'argomento discusso in questa presentazione.
© 2005 CEPI Srl

La storia naturale dell'epatite C non è ancora del tutto definita, non solo per l'eterogeneità del profilo clinico e dell'evoluzione sia dell'infezione acuta che di quella cronica, ma anche per problemi metodologici relativi al disegno e alla conduzione di studi di storia naturale. L'eterogeneità dei dati di storia naturale presenti in letteratura sull'evoluitività dell'epatite C trova ragione soprattutto nell'esistenza di molti cofattori e variabili legati sia all'ospite che al virus che influenzano in modo significativo il decorso della malattia³.

A quasi 20 anni dal primo trial clinico di terapia con interferone (IFN) nell'epatite cronica da HCV⁴, il trattamento è molto cambiato (Fig. 1)⁵⁻⁹. L'introduzione della ribavirina¹⁰ in associazione con l'IFN- α e l'impiego degli IFN- α 2a e α 2b α -pegilati (PEG-IFN) a lunga emivita, utiliz-

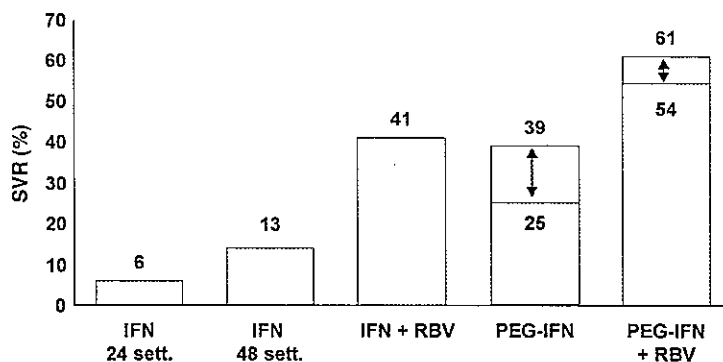


FIGURA 1. Crescente efficacia della terapia antivirale (risposta virologica sostenuta [SVR]) negli ultimi 5 anni.

IFN = interferone; PEG-IFN = interferone pegilato; RBV = ribavirina⁵⁻⁹.

zati prima in monoterapia^{7,8,11} e quindi in combinazione con la ribavirina^{9,12,13}, hanno reso il trattamento efficace nell'ottenere un'eradicazione virale permanente (risposta virologica sostenuta [SVR]) in oltre la metà dei pazienti. La combinazione di PEG-IFN e ribavirina è stata pertanto recentemente approvata dalla National Institutes of Health (NIH) Consensus Development Conference¹⁴ come trattamento standard per i pazienti con epatite cronica da HCV anche in presenza di cirrosi compensata. Tuttavia una cura efficace ed applicabile nella totalità dei pazienti rimane un obiettivo ancora da raggiungere.

Il primo problema è rappresentato dall'eleggibilità dei pazienti potenzialmente candidati al trattamento. Infatti, nonostante sia oggi a disposizione un trattamento potenzialmente efficace, il 30% almeno dei pazienti non tollera o non è idoneo alla terapia di combinazione. Esempio frequente è quello dei pazienti con emoglobinopatie o con cardiopatia ischemica severa¹⁵. L'asintomaticità della malattia da HCV rende inoltre difficile l'identificazione dei potenziali candidati alla terapia nelle fasi precirrotiche.

L'altro problema è rappresentato dal fatto che i trial di terapia antivirale sono stati effettuati soprattutto su popolazioni estremamente selezionate che includevano in una minima percentuale, pazienti con epatopatia cronica e/o cirrosi epatica. Quindi l'applicabilità dei risultati dei trial alla pratica clinica è un fatto che rimane discutibile.

Standard attuali della terapia dell'epatite C

La combinazione di PEG-IFN e ribavirina¹⁶ rappresenta attualmente il *gold standard* del trattamento antivirale dell'infezione da HCV. Le percentuali di SVR complessive sono del 54-56% per 48 settimane di trattamento. I pazienti con infezione da genotipo 1 avranno il 40-50% di probabilità di risposta a 48 settimane di terapia,

mentre i pazienti con infezione da genotipo 2 o 3 risponderanno a 24 settimane nel 75-80% dei casi. Questi valori sono superiori del 5-10% rispetto a quelli ottenuti in tutti i gruppi dei pazienti trattati con IFN- α standard e ribavirina. Gli altri predittori di scarsa risposta convenzionalmente riconosciuti, come alta carica virale e la fibrosi epatica avanzata, influiscono di meno sulla risposta al PEG-IFN rispetto all'IFN standard^{17,18}.

Comunque, un problema notevolmente importante è rappresentato dall'aderenza e dalla compliance alla terapia, condizioni essenziali per ottenere alte percentuali di SVR¹⁸, dal momento che oggi mancano predittori accurati ed affidabili di compliance. Le percentuali massimali di SVR nei pazienti con infezione da genotipo 1 si ottengono in coloro che riescono a mantenere almeno l'80% della dose di PEG-IFN e di ribavirina per almeno l'80% della durata del trattamento. Quindi, una buona aderenza al trattamento migliorerà la probabilità iniziale di avere una SVR. L'aderenza oltre le 12-24 settimane sarà vantaggiosa soltanto per quei pazienti che abbiano realizzato una risposta virologica precoce^{19,20}.

Un punto molto dibattuto sulla terapia dell'epatite C è quello relativo al dosaggio del PEG-IFN, e cioè se questo debba essere somministrato sulla base del peso corporeo o come dose fissa. Le differenti caratteristiche di farmacocinetica del PEG-IFN α 2a da 40 kDa, che ha un volume di distribuzione assai più ridotto rispetto al PEG-IFN α 2b da 12 kDa, rendono possibile per il primo una somministrazione in dose unica di 180 μ g/settimana indipendentemente dal peso corporeo (almeno nella parte centrale del range di indice di massa corporea [BMI]) mentre il secondo va dato in una dose individualizzata che varia da 1 a 1.5 μ g/kg/settimana. Ovviamente quando la dose usata è indipendente dal peso corporeo, la concentrazione ematica raggiunta tende ad essere variabile nei soggetti agli

regimi del range di BMI, rendendo spesso necessarie modifiche delle dosi durante il trattamento. Uno studio recentemente da noi pubblicato, che ha usato una dose fissa di 1.5 µg/kg di PEG-IFN α2b, ha dimostrato peraltro che non c'è una correlazione significativa tra la percentuale di SVR e le dosi di PEG-IFN somministrate in base al peso corporeo. È interessante che nel trial di Manns et al.⁹, uno dei due studi registrativi del PEG-IFN in cui è stata usata una dose più alta (1.5 µg/kg) di PEG-IFN, le percentuali di SVR ottenute siano parallele a quelle del trial italiano²¹. Inoltre, negli studi registrativi, molti pazienti che sono trattati con PEG-IFN¹⁷ ed hanno avuto bisogno di una riduzione di dose non hanno ottenuto una SVR più bassa, suggerendo che probabilmente la dose di farmaco attualmente raccomandata possa essere inutilmente elevata, specialmente per i pazienti con infezione da HCV genotipo 2 e 3.

Recentemente, sono stati pubblicati importanti risultati relativi al trattamento dei pazienti con genotipo 2 e 3. Dalgard et al.²² in uno studio pilota hanno osservato che 14 settimane di terapia sono sufficienti per eradicare l'infezione da HCV in pazienti affetti da genotipi 2 o 3, con risposta virale precoce, ed in particolare in pazienti con genotipo 3 e alta carica virale. Questo dato è stato confermato da uno studio italiano²³, in cui gli autori hanno osservato che un trattamento della durata di 12 settimane con PEG-IFN (1.0 µg/kg) e ribavirina (1000-1200 mg) è egualmente efficace ad un trattamento di 24 settimane in pazienti infetti da HCV genotipo 2 o 3 con risposta precoce al trattamento.

Molte evidenze suggeriscono comunque che la riduzione della dose di PEG-IFN dopo le prime 12 settimane di cura non modifichi la percentuale di SVR⁸, mentre riducendo la ribavirina, soprattutto durante le prime settimane di trattamento, la probabilità di risposta sostenuta si riduce significativamente.

Il dosaggio della ribavirina in base al peso corporeo è ancora più difficile da valutare. La ribavirina è un farmaco con uno stretto limite tra l'efficacia e la tossicità. La dose usata nella pratica clinica è di 1000 mg/die per pazienti di peso < 75 kg e di 1200 mg/die per quelli > 75 kg, in seguito all'esperienza ottenuta negli studi effettuati su pazienti affetti da virus dell'immunodeficienza acquisita. I grandi trial registrativi della terapia di combinazione hanno adottato questo schema, malgrado abbiano tentato di identificare la dose ideale di ribavirina sperando di massimizzare il costo-beneficio del trattamento, particolarmente in pazienti con infezione da genotipo 1b. L'efficacia della dose standard di ribavirina (1000-1200 mg/die) usata nei pazienti del nostro trial²¹ è simile a quello dei due studi registrativi^{9,12} in cui il PEG era somministrato in com-

binazione con una dose standard di ribavirina per 48 settimane. Recentemente è stato pubblicato uno studio pilota²⁴ in cui sono stati trattati un piccolo gruppo di pazienti con una dose elevata di ribavirina (2540 mg/die in media) secondo una schedula individuale; 9 su 10, al follow-up (24 settimane post-trattamento) erano guariti ed avevano HCV-RNA negativo. Comunque, qualunque sia la dose somministrata, la ribavirina è generalmente poco tollerata¹⁷.

Eventi avversi seri e alterazioni dei parametri ematologici possono realizzarsi rispettivamente alla sospensione o alla riduzione della dose di farmaco somministrato. Pazienti trattati per breve periodo (24 settimane) riducono la dose di farmaco e/o lo sospendono per eventi avversi o alterazioni dei parametri di laboratorio meno frequentemente di quelli trattati per lungo periodo (48 settimane). Gli eventi avversi specifici più comunemente riportati sono: astenia, fatica, cefalea, dolori muscolari, febbre, insonnia, artralgia, depressione, facile irritabilità, alopecia, diarrea, prurito ed alterazioni della funzionalità tiroidea¹⁵. Nel nostro trial²¹, l'intolleranza ai farmaci era la causa principale della sospensione del trattamento durante le prime 12-24 settimane.

Negli studi futuri che comparino differenti regimi di trattamento sarà necessario inserire standard di qualità per documentare l'aderenza e la sicurezza del trattamento somministrato. Comunque, anche con un'accurata compliance, la tollerabilità di un trattamento rimane difficile da valutare perché la compliance è un processo non randomizzato all'interno del trial che dipende dai fattori prognostici e dalla risposta al trattamento.

Fattori che influenzano la risposta alla terapia

Genotipo

Nei primi trial registrativi di PEG 12 kDa e PEG 40 kDa^{9,12} c'era una chiara differenza di risposta in base ai genotipi (Figg. 2 e 3)^{9,12}. L'attuale vantaggio dei PEG-IFN è stato osservato nei pazienti con genotipo 1, in cui la percentuale di SVR risultava nettamente più alta rispetto al gruppo di controllo. A questo proposito il nostro gruppo ha recentemente coordinato uno studio multicentrico che ha incluso 311 pazienti mai trattati in precedenza con genotipo 1b²¹. I pazienti sono stati randomizzati a ricevere ribavirina 1000-1200 mg/die in associazione con IFN α2b 6 MU a giorni alterni per 48 settimane (150 pazienti) o PEG-IFN α2b 100 µg/settimana per 8 settimane e successivamente 50 µg/settimana per 40 settimane (163 pazienti). La SVR è stata raggiunta nel 29% dei pazienti con IFN standard e nel 41% di quelli con PEG-IFN α2b, dimostrando così che in questi pazienti difficili da trattare

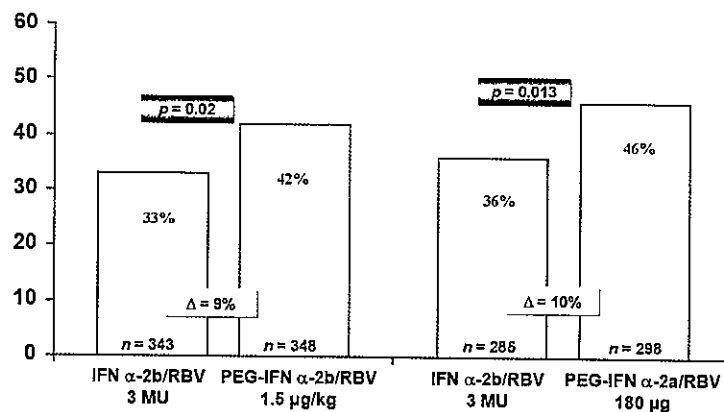


FIGURA 2. Risposta virologica sostenuta nei pazienti naïve affetti da epatite cronica HCV-correlata, genotipo 1. Risultati dei due trial registrativi^{9,12}. Abbreviazioni come in figura 1.

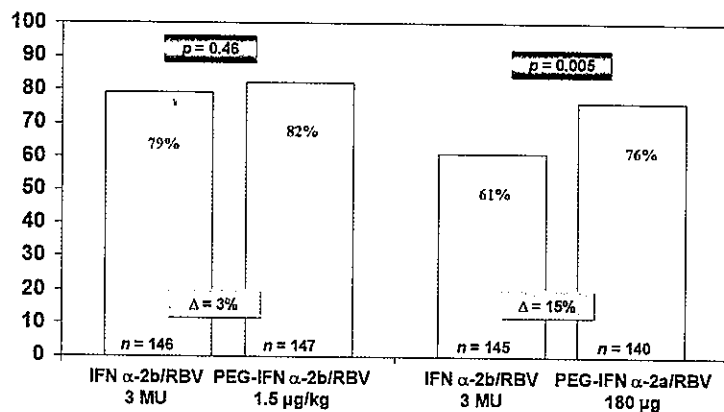


FIGURA 3. Risposta virologica sostenuta nei pazienti naïve affetti da epatite cronica HCV-correlata, genotipo 2-3. Risultati dei due trial registrativi^{9,12}. Abbreviazioni come in figura 1.

il PEG-IFN è superiore all'IFN standard, anche quando quest'ultimo viene somministrato ad alte dosi. La tollerabilità dell'IFN standard ad alte dosi risultava significativamente minore rispetto a quella del PEG-IFN α 2b (drop-out rispettivamente nel 32 e 20%).

Nei pazienti con genotipo 2 e 3, è stata sperimentata una strategia di trattamento con PEG-IFN e ribavirina di durata variabile (cioè i pazienti con una risposta precoce, a 4 settimane, venivano trattati soltanto per 12 settimane piuttosto che per 24 settimane) realizzando percentuali di SVR simili a quelle realizzate con il trattamento di durata standard (24 settimane). Questi risultati sono simili a quelli ottenuti da uno studio non controllato finlandese, in cui l'89% dei pazienti rispondeva a 14 settimane²².

L'infezione con il genotipo 4 è un problema importante soprattutto in quelle aree del mondo dove questo genotipo è comune, per esempio il Nord Africa. Il trattamento con IFN standard è stato riportato scarsamente effica-

ce^{17,18}. Nei due trial registrativi^{9,12}, l'efficacia del trattamento di combinazione con PEG-IFN e ribavirina era incidiata dal numero limitato di pazienti con genotipo 4: infatti 44 erano inclusi nello studio di Manns et al.⁹ (insieme con i genotipi 5 e 6) e 13 nello studio di Fried et al.¹². Altri 36 soggetti sono stati trattati nello studio di Hadziyannis e Papatheodoridis¹³. Nel trial di Manns et al.⁹ per il genotipo 4 (più il 5 e 6) si aveva una percentuale di risposta del 37.5% alla terapia standard e del 50% al PEG.

Un'analisi dei risultati ottenuti nei due trial di PEG-IFN^{9,12} dei 49 soggetti con infezione da HCV genotipo 4 (39% con cirrosi) ha mostrato che il trattamento più lungo e la ribavirina somministrata ad alte dosi ottenevano le percentuali più alte di SVR. Queste conclusioni sono difficili da ricavare per pazienti che abitano in regioni ad alta endemia per il genotipo 4, dove diversi fattori (età all'infezione, durata di malattia, comorbidità come schistosomiasi) potrebbero modificare la risposta.

Un trial egiziano, recentemente pubblicato che includeva pazienti infetti da genotipo 4, ha mostrato che la combinazione di PEG-IFN $\alpha 2b$ e ribavirina (1000-1200 mg), per 36 o 48 settimane, è più efficace del trattamento per 24 settimane, con SVR del 69-70 vs 29%²⁵.

Steatosi e virus dell'epatite C

Diversamente da quanto osservato nell'epatite da HBV e nelle epatiti autoimmuni²⁶, la steatosi è un reperto istologico frequente nei pazienti con epatite cronica da HCV²⁷. La prevalenza di steatosi nelle biopsie epatiche di pazienti con infezione da HCV è intorno al 50%, con un range variabile dal 30 al 70%²⁷. Anche quando questi dati di prevalenza vengono corretti per i fattori di rischio noti di steatosi (obesità, diabete di tipo 2, alcool, dislipidemia), la percentuale di pazienti con HCV e accumulo intraepatico di grasso rimane alta (30-40%)^{28,29}.

La steatoepatite non alcolica (NAFLD) e la malattia cronica di fegato da HCV sono condizioni comuni nella popolazione generale³⁰ e pertanto la loro coesistenza nel singolo paziente è probabile. La stima della coesistenza casuale, calcolata sulla base dei dati di prevalenza delle due malattie, è nella popolazione generale intorno allo 0,30% e nei pazienti con infezione cronica da HCV intorno al 20%³¹. Il tasso di steatosi osservato nei pazienti infetti con HCV è pertanto 2.5 volte maggiore rispetto al valore atteso sulla base della semplice coesistenza casuale.

I meccanismi con cui l'HCV determina la formazione o si associa alla steatosi non sono ancora perfettamente noti. I dati disponibili in letteratura suggeriscono una complessa interazione fra fattori virali e fattori legati all'ospite³², in cui la rilevanza individuale di uno o di entrambi i fattori varia largamente anche in rapporto al genotipo coinvolto³³⁻³⁷. I dati della letteratura hanno dimostrato una sicura relazione tra il genotipo virale 3 e la presenza di steatosi, confermata dalla correlazione fra severità della steatosi e livelli di viremia e di carica virale intraepatica, nonché dalla regressione della stessa in caso di SVR alla terapia antivirale³³ e di ricomparsa in coincidenza della recidiva virologica, dopo un'iniziale risposta a fine trattamento³⁸. In accordo con l'ipotesi di un effetto steatogenico diretto dell'HCV è stato mostrato che la proteina core induce accumulo di goccioline intracitoplasmatiche ricche di trigliceridi in topi transgenici e in cellule transfettate³⁹. *In vitro*, l'espressione della proteina core dà luogo alla colocalizzazione della stessa con i mitocondri⁴⁰ e all'alterazione della struttura a doppia membrana mitocondriale con compromissione della β -ossidazione degli acidi grassi e sviluppo di steatosi⁴¹. Più recentemente è stato dimostrato che, in topi transgenici per la proteina core dell'HCV, la proteina core ha come bersaglio l'attività del-

la *microsomal triglyceride transfer protein* interferendo così con l'assemblaggio epatico e la secrezione dell'apolipoproteina B contenente le lipoproteine a bassissima densità⁴². In accordo con questo modello, studi nell'uomo hanno dimostrato che la severità della steatosi, nei pazienti infettati cronicamente da HCV genotipo 3, correla con l'ipobetalipoproteinemia⁴³ e che l'alterato profilo metabolico si normalizza in caso di SVR alla terapia antivirale^{33,35,43}.

La steatosi prevalentemente metabolica che si osserva soprattutto nei genotipi virali non 3 potrebbe rappresentare una reazione ospite-correlata legata fondamentalmente alla presenza di una o più condizioni della sindrome metabolica ed in particolare all'insulino-resistenza (IR)³⁴. L'obesità, e in particolare l'obesità viscerale⁴⁴, è strettamente associata alla steatosi, probabilmente a causa della concomitante IR che determina un'aumentata riserva di acidi grassi liberi nel fegato, l'inibizione della β -ossidazione epatica e della secrezione dei lipidi. Nella NAFLD l'associazione fra obesità, IR e fibrosi potrebbe essere dovuta alla steatosi, di per sé coinvolta nella fibrogenesi, o alternativamente ad alti livelli di insulina e glucosio che stimolano il rilascio del fattore di crescita fibrogenico o fattore di crescita del tessuto connettivo da parte delle cellule stellate⁴⁵ e/o ad un effetto fibrogenico diretto della leptina.

Analogamente a quanto osservato nella NAFLD, un elevato BMI e diabete mellito di tipo 2 sono stati associati entrambi con lo sviluppo di steatosi e fibrosi anche nei pazienti con infezione cronica da HCV⁴⁶. La steatosi in pazienti con infezione cronica da HCV è risultata correlata anche con la massa grassa addominale, suggerendo che, come nella NAFLD, l'IR e la conseguente aumentata riserva di acidi grassi nel fegato hanno un ruolo centrale nella patogenesi della steatosi.

Va peraltro sottolineata la frequente associazione fra diabete mellito di tipo 2 e infezione da HCV. Già Allison et al.⁴⁷ avevano dimostrato che nei pazienti con cirrosi ad eziologie diverse, l'infezione da HCV era indipendentemente associata a diabete mellito di tipo 2. L'associazione fra HCV e diabete è presente anche nelle fasi precedenti allo sviluppo della cirrosi e non si osserva in altre malattie croniche di fegato anche ad eziologia virale. Mentre dunque la steatosi nei soggetti infetti con genotipo 3, che costituiscono una popolazione più giovane e con BMI inferiore, sembra dovuta prevalentemente a un effetto steatogenico diretto del virus, nella steatosi osservata nei genotipi non 3 appare prevalente l'effetto dei fattori metabolici e la correlazione con il BMI e l'obesità viscerale, indipendente dalla carica virale^{48,49}. È verosimile, pertanto che, i fattori dell'ospite possano avere, con effetto

sinergico o addizionale a quello del virus, un ruolo centrale nello sviluppo di steatosi e nella successiva progressione della malattia.

I meccanismi attraverso cui i fattori metabolici dell'ospite contribuiscono allo sviluppo di steatosi e successivamente alla progressione della malattia da HCV rimangono ancora non del tutto definiti. Recentemente, abbiamo analizzato il database dei 311 pazienti infetti con HCV, genotipo 1b²¹ per valutare: 1) la prevalenza e la severità della steatosi e la sua relazione con i fattori virali e metabolici, 2) la correlazione tra steatosi e fibrosi, e 3) l'impatto della steatosi sulla risposta al trattamento. In questo studio⁵⁰ non soltanto siamo stati in grado di confermare l'elevata prevalenza di steatosi (57%) nell'epatite cronica HCV-correlata genotipo 1b, ma ne abbiamo anche mostrato l'importanza nella progressione della fibrosi. Studi sperimentali *in vivo* ed *in vitro* e dati clinici sulla risoluzione della steatosi che consegue alla terapia antivirale in pazienti con epatite C genotipo 3 hanno dimostrato un ruolo diretto dell'HCV nello sviluppo della steatosi epatica^{28,29,31,36,37}. D'altra parte la mancata correlazione tra scomparsa della steatosi come conseguenza al trattamento antivirale in pazienti infetti da HCV genotipo 1b suggerisce che la steatosi di questi pazienti non è virus-correlata. Comunque, la steatosi nella popolazione generale è principalmente associata con l'obesità, il diabete mellito e la dislipidemia^{48,49}. Queste alterazioni sono nosograficamente raggruppate nella sindrome metabolica⁵¹ la cui caratteristica principale è rappresentata dall'IR. Recentemente si è osservato che l'epatite C può indurre IR e questo effetto dipende dal genotipo virale, con livelli più alti di IR nei genotipi non 3⁵². I nostri dati mostrano l'associazione tra *homeostasis model assessment* (HOMA)-IR⁵³ e steatosi moderata/severa nei pazienti affetti da HCV genotipo 1b. Nonostante la nostra fosse una popolazione molto selezionata e non fosse stato incluso nessun paziente con diabete mellito di tipo 2, un'alta proporzione di pazienti aveva IR, come se questa predisponesse allo sviluppo di steatosi prima della comparsa delle altre manifestazioni cliniche (per esempio diabete). In questo studio noi confermiamo l'associazione tra steatosi e fibrosi, indicando un ruolo della steatosi nella progressione della malattia, ma non troviamo alcuna associazione tra IR e fibrosi recentemente riportata da Hui et al.⁵⁴. Infatti, nei nostri pazienti abbiamo osservato un'associazione tra IR ed il grado di steatosi, ma l'IR non è risultata predittiva della progressione della fibrosi. Dai dati ottenuti si potrebbe speculare che l'IR possa provocare fibrosi indirettamente, attraverso il suo ruolo nello sviluppo della steatosi, malgrado Hui et al.⁵⁴ non siano stati in grado di trovare una correlazione tra steatosi e fibrosi.

Infine, è stato osservato che la steatosi provoca una resistenza alla terapia antivirale. Il meccanismo con cui la steatosi gioca un ruolo negativo nella risposta al trattamento antivirale è ignoto, ma sembra essere indipendente da altri fattori già noti come l'età e la fibrosi. Bressler et al.⁴⁹, di recente hanno mostrato che l'obesità, definita come un BMI > 30 kg/m², è un fattore di rischio indipendente per la non risposta alla terapia antivirale.

Recenti studi hanno indicato la leptina come possibile ormone coinvolto nello sviluppo della steatosi attraverso complesse interrelazioni fra fattori virali e metabolici⁵⁵. La leptina è un'adipochina prodotta prevalentemente dal tessuto adiposo i cui livelli circolanti correlano strettamente con il BMI, la percentuale e la distribuzione del grasso corporeo⁵⁶. L'accumulo di grasso epatico nell'obesità avviene prevalentemente nell'ambito di un'IR e di elevati livelli circolanti di insulina. L'alterata sensibilità all'insulina negli adipociti promuove la lipolisi grassa e aumenta la distribuzione degli acidi grassi al fegato. Nel fegato l'insulina stimola la sintesi degli acidi grassi e ne inibisce l'ossidazione⁵⁷. È stato dimostrato che la leptina regola sia la secrezione insulinica, sia la sensibilità a questo ormone. All'interno degli epatociti, la leptina ha un complesso effetto sulla risposta insulinica: 1) stimola il trasporto e il turnover del glucosio, 2) inibisce la fosforilazione insulinica indotta di diverse proteine di *signaling* intracellulare compresa l'*insulin receptor substrate-1* e 3) regola con un meccanismo di down-regulation la gluconeogenesi, suggerendo un suo possibile ruolo nell'induzione dell'IR⁵⁷.

L'adiponectina è un proteina prodotta e secreta in maniera specifica dagli adipociti e coinvolta nell'omeostasi glicidica e lipidica. Essa aumenta l'ossidazione tissutale dei grassi, portando a ridotti livelli di acidi grassi e contenuto tissutale di trigliceridi e incrementando la sensibilità insulinica. In particolare, l'adiponectina, a livello epatico, riduce la sintesi lipidica e la produzione di glucosio e determina riduzione dei livelli di glucosio e di acidi grassi liberi nel sangue. A livello muscolare invece l'adiponectina riduce la sintesi dei trigliceridi e aumenta l'ossidazione lipidica e il consumo energetico⁵⁸. La sintesi di adiponectina si riduce in tutti i casi di eccesso di calorie⁵⁹, per cui è stata osservata una correlazione negativa fra sovrappeso e livelli circolanti di adiponectina e l'aumento della concentrazione di adiponectina con la perdita di peso. Bassi livelli di adiponectina sono fra l'altro associati con l'IR e l'iperinsulinemia⁵⁹. È stato dimostrato inoltre che l'adiponectina riduce la secrezione di fattore di necrosi tumorale- α da parte del sistema monocito-macrofagico e delle cellule schiumose, antagonizzandone gli effetti biologici⁶⁰. Questa adipochina dunque potrebbe avere un'azione antinfiammatoria e antifibrogenica esercitando un ruolo

effettivo anche sullo sviluppo dell'attività necroinfiammatoria e del danno epatico (associato a steatosi). Nell'ambito di uno studio prospettico, che ha arruolato 55 pazienti naïve con diagnosi istologica di epatite C, sono stati valutati il ruolo dei fattori metabolici dell'ospite nello sviluppo della steatosi e il loro impatto sulla fibrosi epatica, attraverso l'identificazione della relazione fra indici di IR (HOMA-IR e rapporto fra glicemia a digiuno e insulina a digiuno), e adipochine (leptina, adiponectina, resistina). Sono stati misurati i livelli sierici di leptina, adiponectina, peptide C resistina, lipoproteina A ed apolipoproteina. L'IR è stata valutata quantitativamente attraverso indici statici rappresentati dall'HOMA-IR e dal rapporto fra glicemia e insulina a digiuno. La formula usata per definire l'HOMA-IR è: $\text{HOMA-IR} = \frac{\text{insulina a digiuno (mUI/L)} \times \text{glicemia a digiuno (mmol/L)}}{22.5}$; quella per il rapporto fra glicemia e insulina a digiuno è $\frac{\text{glicemia a digiuno (mg/dL)}}{\text{insulina a digiuno (mUI/L)}}$ ⁵³. Istologicamente, la steatosi è stata graduata secondo lo score di Brunt. Il grado 1 di steatosi identifica i pazienti con meno del 33% di epatociti coinvolti da steatosi, il grado 2 quelli con steatosi a carico del 33-66% di epatociti e il grado 3 quelli con oltre il 66% di epatociti con steatosi. L'attività necroinfiammatoria e la fibrosi sono stati valutati secondo lo score METAVIR. Dei 55 pazienti consecutivamente arruolati, 33 (60%) erano genotipo 1b, e solamente 4 (8%) avevano genotipo 3a; 20 avevano una steatosi istologicamente documentata di grado 2 o 3. I pazienti con epatite C e steatosi di grado 2 o 3 erano più vecchi, ed avevano staging e grading di malattia più avanzato. La sindrome metabolica era presente in 7 su 20 pazienti con steatosi e 4 su 35 senza steatosi. Il BMI, i trigliceridi, l'insulina, l'HOMA, il rapporto glicemia-insulina, la leptina, e il rapporto leptina/adiponectina, sono risultati statisticamente associati con la steatosi⁶¹.

Dai risultati ottenuti si evince che il riscontro di steatosi è un reperto istologico altamente frequente in associazione con l'epatite cronica da HCV. Il BMI è l'unico fattore predittivo indipendente di steatosi moderata-severa. La steatosi e la necroinfiammazione sono i predittori istologici di fibrosi avanzata che a differenza della steatosi correla con l'età del paziente suggerendo quindi un'ipotesi di danno sequenziale in cui la steatosi, in associazione con l'infezione virale, gioca un ruolo determinante. La steatosi è a sua volta in stretta relazione con il BMI e la distribuzione del grasso corporeo che sono il risultato di una complessa regolazione ormonale ed immunologica correlati con l'IR. Le adipochine, e soprattutto la leptina e l'adiponectina, svolgono un ruolo importante, ancora non del tutto chiarito, in questo processo. Queste osservazioni possono avere implicazioni prognostiche e terapeutiche im-

portanti, da una parte per l'identificazione di un sottogruppo di pazienti (con steatosi grado 2-3 e spiccata attività necroinfiammatoria) ad alto rischio di progressione della malattia epatica e in cui pertanto è più forte l'indicazione alla terapia antivirale e all'eradicazione del virus, dall'altra, per un più corretto approccio della steatosi nell'ambito dell'infezione cronica da HCV. Modificare alcuni fattori dell'ospite, come l'obesità e il sovrappeso, sia con un regime alimentare controllato che con specifiche terapie farmacologiche potrebbe garantire infatti una più lenta evoluzione della malattia epatica.

Fibrosi

I pazienti con epatite da HCV vengono sottoposti a biopsia epatica per valutare la prognosi della malattia e stimare la necessità di un trattamento antivirale⁶². I dati istologici inoltre aiutano il clinico a valutare la probabilità di risposta alla terapia. Comunque nel valutare la risposta al trattamento, l'esame istologico ha molte limitazioni ed è fonte potenziale di errori. Primo, nella maggior parte dei casi l'attività necroinfiammatoria dell'epatite C è lieve-moderata, quindi cambiamenti modesti indotti dal trattamento con IFN sono difficili da valutare con accuratezza e affidabilità. Secondo, è probabile che molti fattori influenzino l'interpretazione dei dati istologici, tra cui la discordanza nella definizione di caratteristiche anatomico-patologiche ed il processamento dei campioni. Terzo, nella maggior parte dei trial non è riportata una valutazione preliminare delle variazioni intra/interosservatore nel corso della stima semiquantitativa del danno istologico, e questa può essere una fonte di errori particolarmente importante negli studi cooperativi, o negli studi in cui i campioni biopsici vengono valutati da patologi diversi. Quarto, l'*histological activity index* di Knodell e le sue modifiche sono misurate su una scala ordinale con intervalli irregolari, che possono portare ad errori nella valutazione cumulativa e comparativa dei dati. Infine, i campioni biopsici riflettono soltanto un preciso momento di un processo dinamico a lungo termine e che si sviluppa in momenti differenti le cui risposte al trattamento possono farlo variare. Di conseguenza, la valutazione istologica realmente accurata di un processo cronico richiede ripetuti prelievi che non possono sempre essere effettuati per l'invasività della procedura.

Nel 1997, una nostra metanalisi⁶³ di 17 trial randomizzati controllati (RCTs) (1223 pazienti) ha messo in evidenza che il trattamento con IFN migliora significativamente l'istologia epatica. Il miglioramento istologico era chiaramente dovuto alla risposta al trattamento antivirale. Comunque, a causa della notevole eterogeneità degli studi inclusi in questa metanalisi e per la mancanza dei da-

ti individuali dei pazienti inclusi negli studi, non è stato possibile ottenere certezze. Quindi, i grandi studi multicentrici hanno chiaramente dimostrato che il con il PEG si ottiene una SVR significativamente maggiore che con l'IFN standard. Nondimeno, i risultati di questi studi sull'effetto di questo nuovo farmaco sull'istologia epatica rimangono poco significativi, e la stima complessiva dell'effetto del trattamento è difficile da valutare^{64,65}.

Per superare alcune delle limitazioni menzionate e migliorare la stima dell'effetto abbiamo condotto una metanalisi per dati individuali⁶⁶. Gli obiettivi di questa metanalisi per dati individuali erano di determinare le differenze tra PEG-IFN $\alpha 2a$ ed IFN $\alpha 2a$ rispetto alle variazioni dell'istologia epatica, e di identificare i predittori (clinici, biochimici e virologici) del miglioramento istologico. In questo studio, che includeva 1013 pazienti (provenienti da 3 RCTs) che avevano coppie di biopsie epatiche all'inizio e dopo 24 settimane alla fine del trattamento, abbiamo osservato che il trattamento con IFN migliora l'istologia epatica e questo effetto è più marcato con il PEG⁶⁶. Particolarmente, questa metanalisi per dati individuali ha mostrato che una riduzione notevole dell'attività necroinfiammatoria così come della fibrosi si realizzava nel periodo di post-trattamento solamente nei pazienti che avevano avuto una SVR e, in misura minore nei relapser, mentre si avevano minime variazioni dell'attività necroinfiammatoria e nessun cambiamento significativo della fibrosi nei non responder. Inoltre, sembra che i pazienti con un BMI basso ed un alto livello di alanina aminotransferasi (ALT) hanno una probabilità più alta di miglioramento istologico. Anche se i meccanismi responsabili dell'effetto del BMI sull'istologia epatica non sono noti, una raccomandazione pratica può essere quella di ridurre il peso corporeo nei pazienti in sovrappeso od obesi prima di iniziare la terapia. Le informazioni disponibili sono sufficienti per giungere alle seguenti conclusioni: 1) il PEG-IFN è più efficace dell'IFN convenzionale nel migliorare l'istologia epatica; 2) la terapia con PEG-IFN induce una marcata riduzione dello staging nei soggetti con SVR ed in misura minore nei relapser dopo 24-48 settimane di trattamento, ma non offre alcun beneficio ai non responder.

La prevenzione dell'epatocarcinoma

Anche se la diagnosi precoce ed i trattamenti sempre più efficaci sono in grado di controllare il numero di pazienti che muoiono con HCC, l'importanza della prevenzione è gradualmente emersa dal momento che l'HCC avanzato è difficile da trattare^{67,68}. Quindi la prevenzione resta un problema importante per la gestione a lungo termine dei pazienti cirrotici, specialmente dove l'HCV e l'infe-

zione occulta da HBV sono le cause principali di malattia cronica di fegato (> 80% nell'area del Mediterraneo)⁶⁹.

È ben noto che una riduzione della replicazione virale di lunga durata, può ridurre il turnover degli epatociti, ed in misura minore il rischio di displasia e cancro. Nel 1995, un piccolo RCT ha mostrato una riduzione dell'incidenza di HCC nei pazienti affetti da cirrosi epatica HCV-correlata, rispetto ai controlli⁷⁰. Sulla scia di questo studio, sono stati condotti molti trial, che essendo effettuati retrospettivamente e su coorti piccole, mostravano un elevato grado di eterogeneità, rendendo difficile la valutazione dell'eventuale beneficio ottenuto con il trattamento con IFN. Quindi, cumulando le evidenze disponibili nel campo della prevenzione secondaria, e valutandole tramite una metanalisi (3 RCTs e 17 trial randomizzati non controllati [NRCTs]: 4659 pazienti), abbiamo effettuato una revisione critica della letteratura riguardo al ruolo e all'efficacia dell'IFN nel prevenire l'HCC in pazienti con cirrosi epatica HCV-correlata⁷¹.

L'IFN sembra ridurre l'incidenza di HCC nei 20 studi, tranne che in uno. La stima cumulativa dell'effetto del trattamento è stata significativamente a favore della prevenzione ($p < 0.00001$). Comunque, abbiamo trovato una notevole eterogeneità tra gli studi ($p < 0.0001$). Questa discordanza fra i trial non sorprende, a causa degli errori nella selezione dei pazienti e nella loro introduzione nei gruppi di trattamento. Grandi differenze sono state osservate nel rischio di base di cancerizzazione tra i diversi trial: la percentuale di HCC nei non trattati, variava dal 6.8⁷² al 73%⁷⁰. Dal momento che gli studi presentavano una notevole eterogeneità, è stata effettuata un'analisi di sottogruppo, in relazione al differente disegno (RCT vs NRCT), alla razza (studi europei vs orientali), all'incidenza di HCC nei gruppi dei non trattati (nei controlli ≥ 20 vs $< 20\%$) ed al tipo di pubblicazione (*full papers* vs *abstracts*). Risultati di una certa importanza sono stati riscontrati quando sono stati cumulati i 3 RCTs, effettuati su pazienti europei, pubblicati come *full papers*, ed in cui la frequenza di HCC era meno del 20% nel periodo di follow-up, variabile da 32 a 76 mesi. Per valutare la differenza dell'incidenza di HCC nei trattati e nei non trattati, abbiamo effettuato un'analisi multivariata che includeva il trattamento con IFN, la lunghezza del follow-up, la percentuale di cancro nei non trattati il tipo di pubblicazione e la razza. L'analisi finale ha mostrato che i cirrotici trattati con IFN hanno una probabilità inferiore di sviluppare HCC (odds ratio 0.28). Per valutare se l'effetto preventivo dell'IFN sullo sviluppo dell'HCC era indipendente dalla cirrosi, abbiamo analizzato i risultati di 4 studi, in cui erano stati arruolati soggetti con epatite cronica non cirrotica. In questi trial erano inclusi 4011 soggetti; soltanto

0 soggetti hanno sviluppato HCC dopo un follow-up variabile da 52 a 62 mesi. Abbiamo valutato anche la percentuale di HCC tra i responder e non responder. L'IFN aveva significativamente la percentuale di HCC indipendentemente dalla presenza di cirrosi, ma proporzionalmente al grado di fibrosi prima del trattamento. Relativamente alla cirrosi HCV-correlata, i dati ottenuti suggeriscono un debole effetto preventivo dell'IFN sullo sviluppo di HCC. L'effetto preventivo era più evidente tra i soggetti con risposta biochimica che rappresentano una piccola quota della popolazione cirrotica. Concludendo, i risultati della nostra metanalisi⁷¹ indicano che gli studi presenti in letteratura sono molto eterogenei. Questo non deve sorprendere, infatti è ben chiaro come studi con alta incidenza di HCC nei controlli sono più favorevoli nel dimostrare l'efficacia del trattamento, invece quelli con basse percentuali, non mostrano beneficio.

Virus dell'epatite B occulto

Il profilo virologico dell'HBV e dell'HCV e le loro interazioni nell'ambito delle coinfezione non sono definite. Pazienti con epatite cronica HCV-correlata potrebbero avere avuto un'infezione da HBV che ormai è spenta ed occulta, essendo negativi per HBsAg. La proteina core dell'HCV è in grado di inibire l'HBV *in vitro*, ed inoltre, sembra che l'infezione occulta da HBV in soggetti con epatite C sia legata conseguentemente ad una malattia più severa, e sembra che riduca la sensibilità al trattamento antivirale.

Quindi, nel tentativo di stabilire l'effetto che potrebbe avere il genoma dell'HBV nel fegato, sulla cinetica virale precoce dell'HCV-RNA di pazienti con epatite C trattati con PEG-IFN e ribavirina, abbiamo studiato 22 soggetti anti-HCV e HCV-RNA positivi, con diagnosi istologica di epatite cronica (15 maschi e 7 femmine, età media 50 ± 8.6 anni, 16 genotipo 1b) che sono stati trattati con PEG-IFN $\alpha 2b$ (1.0 $\mu\text{g}/\text{settimana}$) più ribavirina (800-1200 mg/kg/die) per un periodo di 52 settimane. La risposta virologica precoce è stata valutata dopo le prime 4 settimane di terapia con l'HCV-RNA quantitativo; l'infezione occulta da HBV è stata valutata esaminando l'HBV-DNA nel fegato prima della terapia. Abbiamo trovato il genoma di HBV nel fegato di 7 pazienti (31.4%). La cinetica dell'RNA virale di HCV durante le prime 4 settimane di trattamento non era influenzata dall'infezione occulta di HBV, sia in termini di riduzione assoluta della carica virale, sia di riduzione di $\geq 2 \log_{10}$ dopo il trattamento. Perciò si può concludere che l'infezione occulta da HBV non modifica la prima fase di risposta alla terapia di combinazione e l'ulteriore follow-up dei pazien-

ti in fase di mantenimento in seguito. Il follow-up chiarirà se e quando l'HBV occulto può avere un ruolo nel ridurre la SVR^{73,74}.

Virus dell'epatite C e sovraccarico di ferro

Le patologie da sovraccarico di ferro derivano da un progressivo incremento delle riserve marziali dell'organismo e conseguente deposito negli organi principali che quindi vengono danneggiati. Prima dell'introduzione del test di screening per l'HCV, i talassemici che venivano regolarmente trasfusi si infettavano con l'HCV ed inoltre a causa delle trasfusioni soffrivano di un sovraccarico di ferro secondario. L'accumulo di ferro nel fegato è una condizione di per sé predisponente al danno epatico, infatti i meccanismi biochimici coinvolti nell'epatotossicità ferroindotta, come per esempio la lipoperossidazione, causano necroinfiammazione e conseguente fibrosi. I talassemici con epatite cronica da HCV, con o senza cirrosi, non hanno una siderosi epatica importante, e questo fa pensare che altre sono le cause di danno epatico in questi pazienti, cioè l'HCV. Quindi, poiché la cirrosi è un processo multifattoriale, in cui sia il sovraccarico di ferro sia l'infezione da HCV, giocano un ruolo determinante, entrambi i fattori devono essere corretti per migliorare la prognosi a lungo termine di questi pazienti.

Nel 1996 abbiamo trattato, con IFN standard, una coorte di talassemici con epatite cronica da HCV per valutare l'influenza del genotipo di HCV e della siderosi epatica nella risposta alla terapia antivirale. Sono stati arruolati 70 soggetti che hanno ricevuto IFN per 12 mesi e sono stati seguiti per altri 24 mesi. La frequenza di HCV, genotipo 1b era del 65.1%; la biopsia epatica ha messo in evidenza la presenza di cirrosi in 11 soggetti (15.7%) con una siderosi di grado 3-4 in 24 pazienti (34.2%). Ventotto soggetti (40%) hanno risposto al trattamento; all'analisi multivariata, l'assenza di cirrosi istologica, una scarsa siderosi e il genotipo diverso da 1b sono risultate variabili indipendenti associate alla SVR. A seconda del grado di siderosi, sembra che pazienti con un grado lieve tendano ad avere una risposta precoce al trattamento, simile a quella dei non talassemici, quelli con un grado più severo invece rispondono più tardivamente⁷⁵.

Comunque, nel Mediterraneo, è molto comune incontrare soggetti con un importante sovraccarico di ferro ed affetti da epatite C. Conoscendo gli effetti della siderosi sulla risposta al trattamento, abbiamo studiato questi soggetti tramite la ricerca dell'emocromatosi ereditaria un disordine genetico autosomico recessivo che interessa soprattutto la razza caucasica ed in cui i pazienti, a seconda della severità del sovraccarico marziale, si presentano in modo diverso, infatti l'assorbimento eccessivo del fer-

ro assunto con la dieta ed il suo deposito portano allo sviluppo di un danno sia epatico, caratterizzato da cirrosi ed HCC, che extraepatico con diabete, ipogonadismo, artrite, iperpigmentazione cutanea e patologie cardiache. L'emocromatosi ereditaria nell'area del Mediterraneo è legata raramente al C282Y e alle mutazioni del H63D. Pochi cluster di emocromatosi ereditaria sono stati identificati suggerendo che questa malattia sia geograficamente e geneticamente eterogenea. Inoltre, non ci sono studi che valutano la differente espressione fenotipica delle mutazioni del gene dell'HFE in associazione con i fattori ambientali. È stato osservato che l'eterozigosi per C282Y o H63D (3.5 e 13% della nostra popolazione generale) è un fattore di rischio indipendente per la fibrosi e la cirrosi nell'epatite cronica HCV-correlata⁷⁶.

Per cui, abbiamo condotto uno studio in cui l'obiettivo era di stimare la frequenza delle mutazioni di HFE nei siciliani con sovraccarico di ferro legato all'HCV⁷⁷. Sono stati studiati 124 soggetti (90 maschi, età media 55 anni, range 29-85 anni) di origine siciliana ricoverati presso il nostro Dipartimento dal 2001 al 2003, per ipertransaminasemia ed iperferritinemia (> 300 ng/ml nei maschi, > 200 ng/ml nelle donne). Il valore medio di ferritina era 1032 ng/ml, range 228-3269 ng/ml; la saturazione della transferrina 57.2%, range 6-114%. Le mutazioni dell'HFE sono state trovate nel 43% (54/124) dei pazienti e per il 90% era rappresentata da H63D. Il 30% dei pazienti con mutazione erano portatori di infezione con HCV. In generale, il 45.6% di tutti i pazienti arruolati (45% anti-HCV positivi) sono stati sottoposti a biopsia epatica e valutati per fibrosi ed emosiderosi (metodo di Perls). Fra i pazienti con infezione da HCV e mutazioni di HFE la deposizione del ferro variava da 2/3 a 3/3, e la fibrosi da 2 a 3, mentre in quelli senza mutazioni, la deposizione del ferro variava da 0/3 a 2/3 e la fibrosi da 1 a 3. Quindi dai risultati ottenuti si può dire che nel bacino del Mediterraneo l'emocromatosi ereditaria non è di frequente riscontro, ma essere portatore di una delle mutazioni del gene HFE rappresenta un fattore di rischio aggiuntivo per una fibrosi epatica severa.

Non responder, relapser e terapie di mantenimento

Le informazioni disponibili sull'uso del PEG-IFN in queste categorie di pazienti sono poche. Quando i pazienti hanno una ricaduta dopo monoterapia con IFN possono essere trattati con IFN e ribavirina per 24 settimane riuscendo ad ottenere una SVR che comunque sempre dipende dai fattori virali di base. Le percentuali complessive di SVR in questo studio erano del 50%, e i pazienti con bassa carica virale e genotipi 2 o 3 quasi sempre avevano una SVR, mentre quelli con genotipo 1 avevano percentuali di SVR più basse.

Trattare i relapser con una terapia di più lunga durata rispetto alla terapia di combinazione standard può aumentare anche l'efficacia. Noi abbiamo osservato⁷⁸ che il ritrattamento con 12 mesi di terapia con IFN standard e ribavirina migliora le percentuali di SVR rispetto alle 24 settimane di terapia, e porta ad una SVR in almeno due terzi dei pazienti con genotipo 1. L'esperienza nei pazienti che hanno avuto una ricaduta dopo il trattamento combinato standard è stata recentemente riportata da Herrine et al.⁷⁹. La percentuale di SVR era del 37.5% in 32 pazienti ritrattati con PEG 40 kDa e ribavirina, e del 45.2% in 31 pazienti che oltre a questo trattamento hanno ricevuto anche amantadina alla dose di 200 mg/die. Il ritrattamento dei pazienti non responder con IFN standard e ribavirina comporta una SVR media del 20-25%. Inoltre, nel ritrattamento i genotipi favorevoli, la giovane età e l'IFN a dosi elevate sono associati ad una più alta probabilità di risposta. In ogni caso la maggior parte dei pazienti con genotipo 1 risulta non responder alla terapia.

Come si può riuscire a trattare efficacemente i non responder? Le risposte possono essere tre: 1) aumentare la durata del trattamento; 2) usare dosi più alte di IFN oppure fare un periodo di induzione con IFN ad alte dosi; 3) usare la terapia di mantenimento.

Riguardo al primo punto, aumentando la durata del trattamento da 48 a 72 settimane con PEG-IFN e ribavirina nei pazienti che non hanno avuto una risposta alla quarta settimana riduce significativamente le percentuali di ricadute e aumenta le percentuali di SVR. La maggior parte di questi pazienti avevano un'infezione da HCV, genotipo 1 ed elevata carica virale, e comunque, l'aumento di durata del trattamento non aumenta l'incidenza di eventi avversi⁸⁰.

Recentemente, Diago et al.⁸¹, hanno presentato i risultati del trial spagnolo effettuato su pazienti infetti con il genotipo 1 non responder ad un precedente trattamento con IFN e ribavirina. I pazienti sono stati trattati con alte dosi di PEG-IFN (180, 270 o 360 µg/settimana) per 12 settimane (induzione), seguite da 180 µg/settimana per 36 settimane (mantenimento). I pazienti sono stati inizialmente randomizzati ad una delle tre dosi di PEG-IFN ed hanno assunto la ribavirina (1000-1200 mg) per l'intero periodo di 48 settimane. La risposta virologica più alta a 12 e 72 settimane fra i tre gruppi è stata ottenuta nei pazienti trattati con la dose di induzione più elevata per 12 settimane. L'incidenza di eventi avversi è stata riportata simile nei tre gruppi. Quindi, i trattamenti che includono una fase di induzione con una dose fissa più alta di PEG-IFN possono essere quindi importanti nel migliorare l'outcome dei non responder.

Negli ultimi anni è stato studiato il concetto di mantenimento a bassa dose di IFN per prevenire la progressio-

ne della malattia nei pazienti che non avevano avuto una risposta virologica al trattamento antivirale. È ben noto che l'IFN inibisce l'attivazione delle cellule epatiche stellate, e come i primi studi di monoterapia ci hanno insegnato, nei non responder riduce l'infiammazione determinando una ridotta progressione verso la fibrosi. L'HALT-C⁸², un trial clinico multicentrico, randomizzato di fase 3, sponsorizzato dall'NIH negli Stati Uniti, ha valutato il ruolo a lungo termine (4 anni) del trattamento con PEG-IFN. Lo scopo di questo RCT era di valutare la tollerabilità e l'efficacia dell'uso a lungo termine di PEG-IFN con o senza ribavirina, nell'ambito del ritrattamento. Nell'HALT-C sono stati arruolati 604 pazienti con epatite cronica HCV correlata, con fibrosi avanzata e/o cirrosi e precedente non risposta all'IFN in monoterapia, alla terapia di combinazione con IFN standard/ribavirina, o al PEG-IFN in monoterapia. I pazienti sono stati trattati con PEG-IFN 180 µg/settimana e ribavirina 1000-1200 mg/die. Quelli che alla 20^a settimana di trattamento erano HCV-RNA negativi, venivano randomizzati a continuare per un totale di 48 settimane e poi venivano ulteriormente seguiti per altre 24 settimane. Il 35% dei pazienti alla 20^a settimana di trattamento erano HCV-RNA negativi, ed il 18% avevano avuto una SVR. I fattori associati con la SVR includevano il trattamento precedente con IFN in monoterapia, l'infezione con genotipi 2 o 3, e l'assenza di cirrosi. La riduzione della dose iniziale di ribavirina dall'80 al 60% durante le prime 20 settimane di trattamento era associata ad una riduzione della SVR dal 21 all'11% ($p < 0$; $p = 0.05$). Di contro, riducendo la dose di PEG-IFN o riducendo la ribavirina dopo la 20^a settimana, quando l'HCV-RNA era già negativo, non si modificava significativamente la SVR. Risultati simili sono stati ottenuti dallo studio EPIC³, un grande trial prospettico, randomizzato e controllato, creato per valutare l'efficacia del trattamento con PEG-IFN e ribavirina per 48 settimane in una popolazione di non responder ed inoltre stimare l'efficacia del PEG-IFN a basse dose rispetto al non trattamento nel rallentare la progressione della fibrosi epatica e/o prevenire la cirrosi. Poynard et al.⁸³ hanno riportato i dati dei 1122 soggetti in cui era disponibile l'HCV-RNA alla 12^a settimana. In generale, il 64% dei soggetti aveva una risposta virale; come atteso, la risposta virale era più alta nei pazienti con genotipo 2-3 rispetto a quelli con genotipo 1 e nei precedenti relapser rispetto ai non responder.

Il trattamento precoce: l'epatite acuta da virus dell'epatite C

Nel 2002 lo *statement* finale della Consensus Conference dell'NIH sul "Trattamento dell'epatite da HCV" consigliava il trattamento dei pazienti con epatite acuta da

HCV e la dose minima per ottenere un beneficio significativo era di 3 MU di α -IFN 3 volte la settimana per almeno 12 settimane⁸⁴. Comunque, c'erano ancora due problemi importanti da risolvere: quando la terapia doveva essere iniziata e quale era la schedula di trattamento ottimale.

Per risolvere questi due problemi abbiamo recentemente pubblicato una metanalisi⁸⁵ che includeva 12 trial controllati, per un totale di 445 pazienti inclusi nei 12 studi. Dai risultati ottenuti si è vista una grande variabilità nella schedula di trattamento usate, sia riguardo alla dose che era variabile da 3 a 5-6 MU sia nella durata del trattamento, variabile da 4 a 24 settimane. I pazienti venivano trattati in momenti diversi, variabili da 15 a 90 giorni dall'esordio della malattia. La lunghezza media del follow-up post-trattamento era di 16 mesi, con un range da 6 a 36 mesi. Si è visto che l'IFN aumentava significativamente la clearance virale in tutti i pazienti e la stima cumulativa della SVR era statisticamente significativa e clinicamente rilevante. La dimensione dell'effetto del trattamento era diversa nei vari studi. È possibile che questo rifletta le differenze nell'ambito delle schedule di trattamento e nelle altre caratteristiche cliniche dei pazienti arruolati. La percentuale di SVR aumentava quando gli studi venivano ordinati per la dose di farmaco somministrata, suggerendo che l'induzione con un'alta dose settimanale di IFN (almeno 21 MU/settimana) era l'opzione più efficace. Inoltre ritardare la terapia di 60 giorni dopo l'esordio della malattia non riduceva l'efficacia del trattamento. La tollerabilità e la sicurezza del farmaco erano buone in tutti gli studi, e persino i pazienti sintomatici e quelli itterici non hanno riportato alcun evento avverso maggiore.

Le evidenze attuali sembrano quindi supportare la terapia con IFN per il trattamento dell'epatite acuta da HCV. La dose di induzione di almeno 21 MU/settimana per il primo mese è la migliore scelta, e ritardare l'inizio della terapia di 8-12 settimane dall'esordio della malattia non compromette la risposta al trattamento. La stima di efficacia ed il costo-beneficio di PEG-IFN o la terapia di combinazione con PEG-IFN e ribavirina nell'epatite acuta da HCV sono attualmente oggetto di studio.

Il trattamento tardivo: la cirrosi

Il principale endpoint della terapia antivirale dell'epatite C è l'eradicazione virale, dal momento che la clearance dell'HCV è stata associata ad un miglioramento dell'istologia epatica. Una SVR è comunque attualmente un endpoint fondamentale per gli studi clinici, ma nella pratica clinica l'obiettivo primario della terapia dovrebbe essere la prevenzione o il rallentamento della progressione della malattia, diminuire la necessità di trapianto e ridurre la comparsa di HCC.

Molti pazienti con cirrosi compensata hanno varici esofagee dovute all'ipertensione portale e leucopiastrinopenia dovute all'ipersplenismo. Questi fattori riducono la tollerabilità al trattamento antivirale, richiedendo più frequentemente riduzioni di dose del farmaco somministrato per evitare eventi avversi. Non sono stati pubblicati studi sulla terapia di combinazione PEG-IFN e ribavirina effettuata in pazienti con queste caratteristiche.

Nel nostro centro è stato completato un trial controllato randomizzato⁸⁶ con l'obiettivo di stimare l'efficacia e la tollerabilità della terapia con PEG-IFN da solo o in combinazione con la ribavirina in pazienti con cirrosi compensata avanzata da HCV. Abbiamo incluso nello studio 102 cirrotici di età < 70 anni, conta piastrinica $\leq 100 \times 10^9/L$ e/o la presenza di varici esofagee di grado 1 o 2. I pazienti con storia di scompenso sono stati esclusi. Settantasei pazienti erano naïve e 35 pazienti non responder a precedenti trattamenti con IFN in monoterapia. Il genotipo virale era 1b in 88 pazienti, 2a/2c in 7 pazienti, 3a in 2 pazienti e 4a/4c in 5 pazienti. Cinquantuno pazienti sono stati randomizzati per ricevere 1 $\mu g/kg/settimana$ di PEG-IFN $\alpha 2b$ in monoterapia per 52 settimane e 51 pazienti per ricevere la terapia di combinazione con 1 $\mu g/kg/settimana$ di PEG-IFN $\alpha 2b$ e ribavirina ad una dose fissa di 800 mg/die per 52 settimane. I pazienti dovevano sospendere la terapia se la conta dei leucociti scendeva a $< 1.5 \times 10^9/L$ e/o la conta piastrinica $\leq 25 \times 10^9/L$ e/o i valori di emoglobina a $< 8 g/L$. Tutti i pazienti con HCV-RNA positivo nel siero a 26 settimane hanno sospeso il trattamento.

I due gruppi erano comparabili per età (media 56 ± 7.5 anni), sesso (64% maschi) peso corporeo (media 70 ± 11.2 kg), precedente trattamento, genotipo e livelli di viremia. Una prima risposta virologica (HCV-RNA negativo a 12 settimane) si è avuta nel 39% dei pazienti trattati con monoterapia e nel 49% dei pazienti trattati con terapia di combinazione; questa percentuale di risposta non aumentava alla 26^a settimana di terapia. Tutti i pazienti con genotipo 2 o 3, il 38% dei pazienti con genotipo 1 e nessuno dei pazienti con genotipo 4 hanno avuto una risposta virologica precoce. Soltanto 12 pazienti con monoterapia e 21 pazienti con terapia di combinazione hanno avuto una risposta virale (23.5 vs 41.1%; $p = 0.057$) a fine trattamento (52 settimane della terapia); dopo 6 settimane di follow-up, 5 pazienti in monoterapia e 10 trattati con la combinazione mantenevano una SVR (9.8 vs 19%; NS). Gli eventi avversi in entrambi i gruppi erano simili e soltanto 34 pazienti hanno sospeso la terapia (20 in monoterapia e 14 in combinazione). Le cause della sospensione erano: intolleranza soggettiva alla terapia (15%), leucopenia (10%), trombocitopenia (4%), anemia (3%), iper-

transaminasemia (1%). Un paziente soltanto trattato con terapia di combinazione si è scompensato con insorgenza di ascite ed encefalopatia. Questa analisi dimostra che il PEG-IFN usato in monoterapia o in combinazione con la ribavirina è capace di sopprimere la viremia in un terzo dei pazienti con cirrosi avanzata da HCV. La sospensione del trattamento è dovuta all'intolleranza ed alla tossicità ematologica, ma gli eventi avversi non sono maggiori. La combinazione con ribavirina non aggiunge un significativo beneficio alla risposta virologica precoce e alla risposta virologica a fine trattamento. La risposta virologica è più alta per i genotipi 2 o 3, ed è simile fra i pazienti naïve e precedentemente trattati.

I pazienti con virus dell'epatite C e transaminasi persistentemente normali

La presenza di ALT elevate è stata considerata importante nel decidere se sottoporre pazienti a biopsia epatica in prospettiva di iniziare la terapia antivirale, basandosi sulla dimostrazione che c'è una correlazione tra i livelli di ALT e l'attività/progressione della malattia di fegato. Il trattamento del sottogruppo di pazienti cronicamente infettati con HCV e con transaminasi persistentemente normali (PNALT) è un problema dibattuto. Questo gruppo di pazienti è consistente, rappresentando circa il 20-40% dei pazienti cronicamente infetti. Le recenti linee guida raccomandano che i pazienti viremici con transaminasi normali non dovrebbero essere considerati "carrier sani". La definizione dei PNALT dovrebbe essere di "soggetti sani carrier di HCV" o "soggetti asintomatici carrier di HCV".

I PNALT possono sviluppare una malattia di fegato con evidenza istologica di fibrosi. La maggior parte degli studi pubblicati sono d'accordo nel concludere che circa i due terzi dei PNALT non hanno oppure hanno una minima attività necroinfiammatoria e/o fibrosi alla biopsia epatica. La fibrosi significativa (METAVIR F2) è stata riscontrata nel 5-30% dei casi, con grandi variazioni fra gli studi. La percentuale di progressione della fibrosi epatica nei PNALT sembra essere generalmente più lenta che in quelli con transaminasi elevate; anche se più lenta, la progressione della fibrosi è presente in un piccolo gruppo.

Un PNALT può riattivarsi e questo evento è evidenziato da un picco di transaminasi. L'incidenza della riattivazione di HCV in soggetti PNALT è compresa tra il 15 e il 30% e la riattivazione può provocare un significativo e rapido deterioramento della malattia di fegato. L'incidenza della riattivazione di HCV sembra essere più alta nel genotipo 2. Per cui, anche l'indicazione al trattamento antivirale non è così chiara come nei pazienti con transaminasi elevate, l'eradicazione del virus dovrebbe essere considerata anche nei PNALT, proprio per l'incidenza (non

di fibrosi e della progressione della malattia di questo sottogruppo. Molti studi hanno dimostrato l'efficacia e la sicurezza dell'IFN e ribavirina. Il trattamento dei PNALT dovrebbe essere individualizzato, in base all'età, alla motivazione, al danno epatico, alla biopsia epatica, nei casi in cui la decisione è più difficile (genotipo 1b, età > 50 anni, infezione lunga o controindicazioni). Quindi, le strategie di trattamento dei PNALT sono simili a quelle dei pazienti con HCV e transaminasi elevate; privilegiano il trattamento dell'"infezione virale nei casi facili" da trattare con le terapie attualmente disponibili ed il trattamento della malattia cronica di fegato nei "casi difficili"⁸⁷.

Recentemente è stato pubblicato un trial internazionale relativo al trattamento dei PNALT con PEG-IFN e ribavirina⁸⁸. I pazienti inclusi, con transaminasi normali per un periodo di almeno 18 mesi, sono stati randomizzati a ricevere PEG-IFN $\alpha 2a$ e ribavirina 800 mg per 24 settimane (212 pazienti), per 48 settimane (210 pazienti) oppure nessun trattamento (69 pazienti). Tutti i pazienti sono stati controllati per 72 settimane. Nessun paziente nel gruppo di controllo ha eliminato l'HCV-RNA. Una SVR (definizione: > 52% è stata ottenuta rispettivamente nei due gruppi alla 24 e 48 settimane. Nei pazienti con genotipo 1b, la SVR era del 13 e 40%, rispettivamente. In quelli con genotipo 2 o 3 variava dal 72 al 78%. Quindi dai risultati ottenuti si evince che l'efficacia del trattamento in questi pazienti e la tollerabilità, sono simili a quelle ottenute nei pazienti con transaminasi elevate; inoltre l'indicazione al trattamento può essere valutata indipendentemente dall'elevazione delle transaminasi.

Riassunto

Un terzo dei pazienti con epatite cronica da virus epatite C (HCV)-correlata ha una malattia di fegato che progressivamente evolve prima in cirrosi ed in seguito in epatocarcinoma. Il trattamento antivirale per questi pazienti è una necessità assoluta. In Italia il virus epatite C è presente solo o in associazione con altri fattori (alcol, virus epatite B [HBV], steatosi), è presente come causa etiologica nel 60-75% delle cirrosi e degli epatocarcinomi. Attualmente il miglior trattamento in termini di efficacia, è la combinazione di interferone pegilato (PEG-IFN) e ribavirina. La percentuale complessiva di risposta virologica (SVR) con questi regimi terapeutici è del 54-61% dopo 48 settimane di terapia. I pazienti con genotipo 1 hanno un'efficacia del 42 al 51% di risposta; quelli con genotipo 2/3 rispondono dopo 24 settimane di terapia nel 78-82% dei casi. Questi livelli di SVR sono dal 5 al 10% più alti nei diversi gruppi di pazienti rispetto a quelli ottenuti con dosi standard di interferone (IFN) standard e ribavirina. La risposta al

trattamento antivirale, può essere influenzata non soltanto dal genotipo, ma anche dalla presenza di steatosi epatica/sindrome metabolica, dal grado di necroinfiammazione e/o fibrosi, dal sovraccarico di ferro ed infine dalla presenza di HBV occulto. La terapia con IFN e ribavirina inoltre è stata ed è tutt'ora oggetto di discussione relativamente alla capacità di agire come prevenzione secondaria dell'insorgenza di epatocarcinoma su cirrosi, motivo per cui sono in aumento i trial effettuati su soggetti con epatopatia cronica compensata HCV-correlata. Il ritrattamento dei non responder alla monoterapia con IFN usando PEG-IFN e ribavirina ha raggiunto una percentuale di SVR del 34-40%, mentre quello dei relapser ad una SVR del 60%. Per diminuire l'impatto socio-economico di un'epatite cronica da HCV, dal momento che la terapia attualmente disponibile ha successo almeno nel 50% dei casi, è necessario trattare i pazienti con infezione acuta da HCV (rate di cronicizzazione 85% dei casi) ed i soggetti anti-HCV positivi a transaminasi normali.

Parole chiave: Epatite C cronica; Genotipo; Non responder; Pazienti infettati con HCV e con transaminasi persistentemente normali; Prevenzione dell'epatocarcinoma; Steatosi; Terapia di combinazione; Virus dell'epatite C.

Bibliografia

1. Niederau C, Lange S, Heintges T, et al. Prognosis of chronic hepatitis C: results of a large, prospective cohort study. *Hepatology* 1998; 28: 1687-95.
2. Stroffolini T, Sagnelli E, Almasio P, Ferrigno L, Craxi A, Mele A, for the Italian Hospitals Collaborating Groups. Characteristics of liver cirrhosis in Italy: results from multicenter national study. *Dig Liver Dis* 2004; 36: 56-60.
3. Pagliaro L, Peri V, Linea C, Camma C, Giunta M, Magrin S. Natural history of chronic hepatitis C. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1999; 31: 28-44.
4. Davis GL, Balart LA, Schiff ER, et al. Treatment of chronic hepatitis C with recombinant interferon alfa. A multicenter randomized, controlled trial. *Hepatitis Interventional Therapy Group*. *N Engl J Med* 1989; 321: 1501-6.
5. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *Hepatitis Interventional Therapy Group*. *N Engl J Med* 1998; 339: 1485-92.
6. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, et al. Randomised trial of interferon alpha2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *International Hepatitis Interventional Therapy Group (IHIT)*. *Lancet* 1998; 352: 1426-32.
7. Zeuzem S, Feinman SV, Rasenack J, et al. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 2000; 343: 1666-72.
8. Lindsay KL, Trepo C, Heintges T, et al. A randomized, double-blind trial comparing pegylated interferon alfa-2b to interferon alfa-2b as initial treatment for chronic hepatitis C. *Hepatology* 2001; 34: 395-403.

9. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomized trial. *Lancet* 2001; 358: 958-65.
10. Reichard O, Andersson J, Schvarcz R, Weiland O. Ribavirin treatment for chronic hepatitis C. *Lancet* 1991; 337: 1058-61.
11. Heathcote EJ, Shiffman ML, Cooksley WG, et al. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C and cirrhosis. *N Engl J Med* 2000; 343: 1673-80.
12. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 975-82.
13. Hadziyannis SJ, Papatheodoridis GV. Peginterferon alfa-2a (40 kDa) for chronic hepatitis C. *Expert Opin Pharmacother* 2003; 4: 541-51.
14. Seeff LB, Hoofnagle JH. National Institutes of Health Consensus Development Conference: management of hepatitis C: 2002. *Hepatology* 2002; 36 (Suppl 1): S1-S2.
15. Fried MW. Side effects of therapy of hepatitis C and their management. *Hepatology* 2002; 36 (Suppl 1): S237-S244.
16. Di Bisceglie AM, Hoofnagle JH. Optimal therapy of hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36 (Suppl 1): S121-S127.
17. Craxi A, Licata A. Clinical trials results of peginterferons in combination with ribavirin. *Semin Liver Dis* 2003; 23 (Suppl 1): 35-46.
18. Cammà C, Licata A, Cabibbo G, Latteri F, Craxi A. Treatment of hepatitis C: critical appraisal of the evidence. *Expert Opin Pharmacother* 2005; 6: 399-408.
19. McHutchison JG, Manns M, Patel K, et al. Adherence to combination therapy enhances sustained response in genotype-1-infected patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2002; 23: 1061-9.
20. Ferenci P, Fried MW, Shiffman ML, et al. Predicting sustained virological responses in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon alfa-2a (40 kD)/ribavirin. *J Hepatol* 2005, in press.
21. Bruno S, Cammà C, Di Marco V, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for naive patients with genotype 1 chronic hepatitis C: a randomized controlled trial. *J Hepatol* 2004; 41: 474-81.
22. Dalgard O, Bjoro K, Hellum KB, et al. Treatment with pegylated interferon and ribavirin in HCV infection with genotype 2 or 3 for 14 weeks: a pilot study. *Hepatology* 2004; 40: 1260-5.
23. Mangia A, Santoro R, Minerva N, et al. Peginterferon alfa-2b and ribavirin for 12 vs 24 weeks in HCV genotype 2 or 3. *N Engl J Med* 2005; 352: 2609-17.
24. Lindahl K, Stahle L, Bruchfeld A, Schvarcz R. High-dose ribavirin in combination with standard dose peginterferon for treatment of patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005; 41: 275-9.
25. Kamal SM, El Tawil AA, Nakano T, et al. Peginterferon (alpha)-2b and ribavirin therapy in chronic hepatitis C genotype 4: impact of treatment duration and viral kinetics on sustained virological response. *Gut* 2005; 54: 858-66.
26. Czaja A, Carpenter H, Santrach P, Moore S. Host- and disease-specific factors affecting steatosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1998; 29: 198-206.
27. Lefkowitz JH, Schiff ER, Davis GL, et al. Pathological diagnosis of chronic hepatitis C: a multicenter comparative study with chronic hepatitis B. The Hepatitis Interventional Therapy Group. *Gastroenterology* 1993; 104: 595-603.
28. Rubbia-Brandt L, Quadri R, Abid K, et al. Hepatocyte steatosis is a cytopathic effect of hepatitis C virus genotype 3. *J Hepatol* 2000; 33: 106-15.
29. Kumar D, Farrell GC, Fung C, George J. Hepatitis C virus genotype 3 is cytopathic to hepatocytes: reversal of hepatic steatosis after sustained therapeutic response. *Hepatology* 2002; 36: 1266-72.
30. Bellentani F, Tiribelli C, Saccoccio G, et al. Prevalence of chronic liver disease in the general population of northern Italy: the Dionysos Study. *Hepatology* 1994; 20: 1442-9.
31. Lonardo A, Adinolfi LE, Loria P, Carulli N, Ruggiero G, Day C. Steatosis and hepatitis C virus: mechanisms and significance for hepatic and extrahepatic disease. *Gastroenterology* 2004; 126: 586-97.
32. Ratziu V, Trabut JB, Poynard T. Fat, diabetes, and liver injury in chronic hepatitis C. *Curr Gastroenterol Rep* 2004; 6: 22-9.
33. Poynard T, Ratziu V, McHutchinson J, et al. Effect of treatment with peginterferon or interferon alfa-2b and ribavirin on steatosis in patients infected with hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38: 75-85.
34. Monto A, Alonzo J, Watson JJ, Grunfeld C, Wright TL. Steatosis in chronic hepatitis C: relative contribution of obesity, diabetes mellitus and alcohol. *Hepatology* 2002; 36: 729-36.
35. Hofer H, Bankl HC, Wrba F, et al. Hepatocellular fat accumulation and low serum cholesterol in patients infected with HCV-3a. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2880-5.
36. Rubbia-Brandt L, Fabris P, Paganin S, et al. Steatosis affects chronic hepatitis C progression in a genotype specific way. *Gut* 2004; 53: 406-12.
37. Hezode C, Roudot-Thoraval F, Zafrani ES, Dhumeaux D, Pawlotsky JM. Different mechanisms of steatosis in hepatitis C virus genotypes 1 and 3 infections. *J Viral Hepat* 2004; 11: 455-8.
38. Rubbia-Brandt L, Giostra E, Mentha G, Quadri R, Negro F. Expression of liver steatosis in hepatitis C virus infection and pattern of response to alpha-interferon. *J Hepatol* 2001; 35: 307.
39. Barba G, Harper F, Harada T, et al. Hepatitis C virus core protein shows a cytoplasmic localization and associates to cellular lipid storage droplets. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 1200-5.
40. Kawamura T, Furusaka A, Koziel MJ, et al. Transgenic expression of hepatitis C virus structural proteins in the mouse. *Hepatology* 1997; 25: 1014-21.
41. Okuda M, Li K, Beard MR, et al. Mitochondrial injury, oxidative stress, and antioxidant gene expression are induced by hepatitis C virus core protein. *Gastroenterology* 2002; 122: 366-75.
42. Perlemuter G, Sabile A, Letteron P, et al. Hepatitis C virus core protein inhibits microsomal triglyceride transfer protein activity and very low density lipoprotein secretion: a model of viral-related steatosis. *FASEB J* 2002; 16: 185-94.
43. Serfaty L, Andreani T, Giral P, Carbonell N, Chazouilliers O, Poupon R. Hepatitis C virus induced hypobetalipoproteinemia: a possible mechanism for steatosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2001; 34: 428-34.
44. Lonardo A, Trande P. Are there any sex differences in fatty liver? A study of glucose metabolism and body fat distribution. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 775-82.
45. Paradis V, Perlemuter G, Bonvoust F, et al. High glucose and hyperinsulinemia stimulate connective tissue growth factor expression: a potential mechanism involved in progression to fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2001; 34 (Part 1): 738-44.
46. Hourigan LF, MacDonald GA, Purdie D, et al. Fibrosis in chronic hepatitis C correlates significantly with body mass index and steatosis. *Hepatology* 1999; 29: 1215-9.

47. Allison ME, Wreghitt T, Palmer CR, Alexander GJ. Evidence for a link between hepatitis C virus infection and diabetes mellitus in a cirrhotic population. *J Hepatol* 1994; 21: 1135-9.
48. Adinolfi LE, Gambardella M, Andreana A, Tripodi MF, Utili R, Ruggiero G. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific HCV genotype and visceral obesity. *Hepatology* 2001; 33: 1358-64.
49. Bressler BL, Guindi M, Tomlinson G, Heathcote J. High body mass index is an independent risk factor for nonresponse to antiviral treatment in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38: 639-44.
50. Cammà C, Di Marco V, Di Bona D, et al. Steatosis is a cofactor for fibrosis and response to therapy in genotype 1b chronic hepatitis C [abstract]. *Ann Ital Med Int* 2001; 19 (Suppl 2): 13.
51. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* 2003; 37: 917-23.
52. Petit JM, Benichou M, Duvillard L, et al. Hepatitis C virus-associated hypobetalipoproteinemia is correlated with plasma viral load, steatosis, and liver fibrosis. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1150-4.
53. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from plasma fasting glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28: 412-9.
54. Hui JM, Sud A, Farrell GC, et al. Insulin resistance is associated with chronic hepatitis C and virus infection fibrosis progression. *Gastroenterology* 2003; 125: 1695-704.
55. Ellidokuz E, Comlekci A, Ellidokuz H, et al. The role of serum leptin levels in chronic hepatitis C with steatosis. *Hepato-gastroenterology* 2003; 50 (Suppl 2): cclxix-cclxxii.
56. Cohen B, Novick D, Rubinstein M. Modulation of insulin activities by leptin. *Science* 1996; 274: 1185-8.
57. Müller G, Ertl J, Gerl M, Preibisch G. Leptin impairs metabolic actions of insulin in isolated rat adipocytes. *J Biol Chem* 1997; 272: 10585-93.
58. Matsuzawa Y, Funahashi T, Kihara S, Shimomura I. Adiponectin and metabolic syndrome. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 29-33.
59. Spranger J, Kroke A, Mohlig M, et al. Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *Lancet* 2003; 361: 226-8.
60. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, et al. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation* 2000; 102: 1296-301.
61. Venezia G, Lo Iacono O, Petta S, et al. Leptin, leptin-adiponectin ratio and insulin resistance are related with steatosis but not with fibrosis in HCV chronic hepatitis [abstract]. *Dig Liver Dis* 2005; 37: 43.
62. Dienstag J. The role of liver biopsy in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36 (Suppl): 152-160.
63. Cammà C, Giunta M, Linea C, Pagliaro L. The effect of interferon on the liver in chronic hepatitis C: a quantitative evaluation of histology by meta-analysis. *J Hepatol* 1997; 26: 1187-90.
64. Poynard T, McHutchison J, Manns M, et al. Impact of pegylated interferon alfa-2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2002; 122: 1303-13.
65. Poynard T, McHutchison J, Davis GL, et al. Impact of interferon alfa-2b and ribavirin on progression of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2000; 32: 1131-7.
66. Cammà C, Di Bona D, Schepis F, et al. Effect of peginterferon alfa-2a on liver histology in chronic hepatitis C: a meta-analysis of individual patient data. *Hepatology* 2004; 39: 333-42.
67. Bruix J, Llovet JM. Prognostic prediction and treatment strategy in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2002; 35: 519-24.
68. Llovet JM, Burroughs A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2003; 362: 1907-17.
69. Cammà C, Giunta M, Andreone P, Craxi A. Interferon and prevention of hepatocellular carcinoma in viral cirrhosis: an evidence-based approach. *J Hepatol* 2001; 34: 593-602.
70. Nishiguchi S, Kuroki T, Nakatani S, et al. Randomised trial of effects of interferon-alpha on incidence of hepatocellular carcinoma in chronic active hepatitis C with cirrhosis. *Lancet* 1995; 346: 1051-5.
71. Cammà C, Di Marco V, Lo Iacono O, et al. Long-term course of interferon-treated chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1998; 28: 531-7.
72. Sofia S, Casali A, Buscarini E, et al. Effect of lymphoblastoid IFN in the treatment of liver cirrhosis and prevention of HCC [abstract]. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1998; 30: 31.
73. Ferraro D, Bonura C, Giglio M, et al. Occult HBV infection and suppression of HCV replication in the early phase of combination therapy for chronic hepatitis C. *J Biol Regul Homeost Agents* 2003; 17: 172-5.
74. Squadrito G, Orlando ME, Pollicino T, et al. Virological profiles in patients with chronic hepatitis C and overt or occult HBV infection. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1518-23.
75. Di Marco V, Lo Iacono O, Almasio P, et al. Long-term efficacy of alpha-interferon in beta-thalassemics with chronic hepatitis C. *Blood* 1997; 90: 2207-12.
76. Licata A, Brucato V, Di Marco V, Barbaria F, Craxi A. Iron overload disease: recent findings. *Ann Ital Med Int* 2004; 19: 145-54.
77. Erhardt A, Maschner-Olberg A, Mellenthin C, et al. HFE mutations and chronic hepatitis C: H63D and C282Y heterozygosity are independent risk factors for liver fibrosis and cirrhosis. *J Hepatol* 2003; 38: 335-42.
78. Di Marco V, Almasio P, Vaccaro A, et al. Combined treatment of relapse of chronic hepatitis C with high-dose alpha2b interferon plus ribavirin for 6 or 12 months. *J Hepatol* 2000; 33: 456-62.
79. Herrine SK, Brown RS Jr, Bernstein DE, Ondovik MS, Lentz E, Te E. Peginterferon alpha-2a combination therapies in chronic hepatitis C patients who relapsed after or had a viral breakthrough on therapy with standard interferon alpha-2b plus ribavirin: a pilot study of efficacy and safety. *Dig Dis Sci* 2005; 50: 719-26.
80. Sanchez-Tapias JM, Diago M, Escartin P, et al. Longer treatment duration with peginterferon alpha-2a (40 KD) (Pegasys®) and ribavirin (Copegus®) in naïve patients with chronic hepatitis C and detectable HCV-RNA by week 4 of therapy: final results of the randomized, multicenter Teravic-4 study. In: Proceedings of the 55th Annual Meeting of the AASLD. Boston, MA: A126.
81. Diago M, Romero-Gomez M, Crespo J, et al. Peginterferon alpha-2a (40 KD) (Pegasys®) and ribavirin (Copegus®) in patients infected with HCV genotype 1 who failed to respond to interferon and ribavirin patients infected with HCV genotype 1 who failed to respond to interferon and ribavirin: final results of the Spanish high-dose induction pilot trial. In: Proceedings of the 55th Annual Meeting of the AASLD 2004. Boston, MA: A522.
82. Shiffman ML, Di Bisceglie AM, Lindsay KL, et al. Peginterferon alpha-2a and ribavirin in patients with chronic hepatitis C who have failed prior treatment. *Gastroenterology* 2004; 126: 1015-23.
83. Poynard T, Schiff E, Terg R, et al. High early viral response (EVR) with Peg-intron/Rebetol (PR) weight based dosing

- (WBD) in previous interferon/ribavirin HCV treatment failures; early results of the EPIC trial. In: Proceedings of the 55th Annual Meeting of the AASLD 2004. Boston, MA: A170.
84. Alberti A, Boccatto S, Vario A, Benvegnù L. Therapy of acute hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36 (Suppl 1): S195-S200.
 85. Licata A, Di Bona D, Schepis F, Shahied L, Craxì A, Camma C. When and how to treat acute hepatitis C? *J Hepatol* 2003; 39: 1056-62.
 86. Di Marco V, Craxì A. Antiviral treatment of HCV cirrhosis. *Hepatology Reviews* 2005; 2: 35-40.
 87. Alberti A. Towards more individualised management of hepatitis C virus patients with initially or persistently normal alanine aminotransferase levels. *J Hepatol* 2005; 42: 266-74.
 88. Zeuzem S, Diago M, Reddy RK, et al, for the PEGASYS Study NR16071 Investigator Group. Peginterferon alpha-2a (40 kilodaltons) and ribavirin in patients with chronic hepatitis C and normal aminotransferase levels. *Gastroenterology* 2004; 127: 1724-32.

Per la corrispondenza:

Prof. Antonio Craxì, Cattedra di Gastroenterologia, Dipartimento Biomedico di Medicina Interna e Specialistica, Università degli Studi, Piazza delle Cliniche 2, 90127 Palermo. E-mail: craxanto@unipa.it