

**Fibrosis hepática de origen incierto
en pacientes infectados por el VIH:
prevalencia y factores asociados**

Trabajo presentado por Inés Pérez Camacho, licenciada
en Medicina para optar al grado de Doctor.

Fdo: Inés Pérez Camacho.

Córdoba, 2 de diciembre de 2008

TITULO: *FIBROSIS HEPÁTICA DE ORIGEN INCIERTO EN PACIENTES
INFECTADOS POR EL VIH: PREVALENCIA Y FACTORES
ASOCIADOS*

AUTOR: *INES PEREZ CAMACHO*

© Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. 2009
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396
14071 Córdoba

www.uco.es/publicaciones
publicaciones@uco.es

ISBN-13: 978-84-7801-941-0
D.L.: CO-505-2009

D. ANTONIO RIVERO ROMÁN, PROFESOR ASOCIADO DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE CÓRDOBA Y JEFE DE SECCIÓN DE LA UNIDAD DE GESTIÓN CLÍNICA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE REINA SOFÍA.

HAGO CONSTAR:

Que el trabajo titulado "FIBROSIS HEPÁTICA DE ORIGEN INCIERTO EN PACIENTES INFECTADOS POR EL VIH: PREVALENCIA Y FACTORES ASOCIADOS" ha sido realizado por Dña. Inés Pérez Camacho bajo mi dirección y que reúne los méritos suficientes para ser defendido ante el tribunal correspondiente y poder optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Lo que firmo en Córdoba a 2 de diciembre de 2008

Fdo: Dr. Rivero Román

**Dña. ÁNGELA CAMACHO ESPEJO, INVESTIGADORA DE LA
FUNDACIÓN REINA SOFÍA Y CAJASUR, ADSCRITA A LA
UNIDAD DE GESTIÓN CLÍNICA DE ENFERMEDADES
INFECCIOSAS DEL HOSPITAL REINA SOFÍA**

HAGO CONSTAR:

Que el trabajo titulado "FIBROSIS HEPÁTICA DE ORIGEN INCIERTO EN PACIENTES INFECTADOS POR EL VIH: PREVALENCIA Y FACTORES ASOCIADOS" ha sido realizado por Dña. Inés Pérez Camacho bajo mi dirección y que reúne los méritos suficientes para ser defendido ante el tribunal correspondiente y poder optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Lo que firmo en Córdoba a 2 de diciembre de 2008

Fdo: Dra. Camacho Espejo

Fibrosis hepática de origen incierto en pacientes infectados por el VIH: prevalencia y factores asociados

ÍNDICE ANALÍTICO

I. INTRODUCCIÓN	10
1. Infección por el VIH	10
2. Hepatopatías en pacientes infectados por el VIH.....	11
2.1. Co-infección por VHC/VHB	12
2.1.1. <i>Co-infección por VHC</i>	12
2.1.2. <i>Co-infección por VHB</i>	15
2.2. Hepatotoxicidad por antirretrovirales	16
3. Fibrosis hepática.....	19
3.1. Clasificación de la fibrosis hepática.....	20
4. Fibrosis hepática de origen incierto.....	29
4.1. Fibrosis hepática y alcohol	30
4.2. Fibrosis hepática y esteatosis hepática no alcohólica	31
4.3. Fibrosis hepática y VIH	32
5. Métodos evaluación de fibrosis hepática	33
5.1. Biopsia hepática	33
5.2. Marcadores serológicos.....	35
5.3. FibroScan	37
5.3.1. <i>FibroScan en pacientes mono infectados por VHC</i>	39
5.3.2. <i>FibroScan en pacientes co-infectados por VIH-VHC</i>	40
5.3.3. <i>FibroScan en pacientes con infección por el VIH</i>	41
5.3.4. <i>FibroScan: puntos de corte</i>	41
5.3.5. <i>FibroScan y marcadores serológicos</i>	43
II. HIPÓTESIS.....	44
III. OBJETIVOS	46
IV. MATERIAL Y MÉTODOS.....	47
1. Diseño y población.....	47
2. Criterios de inclusión:.....	47
3. Criterios de exclusión	47
4. Tamaño de la muestra.....	48
5. Variables e instrumentos de medida	48
6. Análisis estadístico.....	51

V. RESULTADOS.....	53
1. Descripción general de la muestra.....	53
2. Características epidemiológicas y clínicas de la población.....	53
3. Características relacionadas con la infección por el VIH	54
3. Determinación de fibrosis hepática y sus posibles causas.....	56
4. Análisis univariante	57
4.1. Análisis univariante de las variables epidemiológicas, clínicas y aquellas relacionadas con la infección por el VIH	57
4.1. Análisis univariante de de los diferentes fármacos antirretrovirales y del tiempo de exposición a cada uno de ellos	60
4.1.1. Análisis univariante de los diferentes fármacos antirretrovirales.....	61
4.1.2. Análisis univariante del tiempo de exposición a los distintos fármacos antirretrovirales.....	66
5. Análisis multivariante	70
5.1. Análisis multivariante realizado con fármacos antirretrovirales	71
5.2. Análisis multivariante realizado con tiempo de exposición a fármacos antirretrovirales	72
5.3. Análisis multivariante realizado con fármacos antirretrovirales categorizados por exposición reciente ó previa	73
VI. DISCUSIÓN	75
VII. CONCLUSIONES.....	83
VII. BIBLIOGRAFÍA	84

I. INTRODUCCIÓN

1. Infección por el VIH

El Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) pertenece a la familia de los retrovirus. Se han identificado dos tipos, VIH-1 y VIH-2 que tienen características epidemiológicas similares, aunque el VIH-2 es menos patógeno. Las vías demostradas de transmisión del VIH son la sexual, la sanguínea, los tejidos y la vertical. En ausencia de tratamiento antirretroviral (TAR), desde que se produce la infección aguda por VIH hasta que aparece una enfermedad indicativa de SIDA puede transcurrir desde menos de un año hasta más de 15 años, habiéndose observado que el 50% de los infectados desarrollan la enfermedad en los primeros 10 años de infección. En países desarrollados esta evolución ha sido modificada de forma drástica mediante el uso del tratamiento antirretroviral de gran eficacia (TARGA) [1]. Este tratamiento ha demostrado ser muy efectivo para evitar la progresión de la infección por el VIH. La introducción del TARGA ha mejorado de forma sustancial el pronóstico de los pacientes infectados por el VIH [2], como consecuencia de un descenso de la aparición de infecciones oportunistas, de la incidencia de SIDA y de la mortalidad [3, 4]. Sin embargo, el aumento de la supervivencia de los pacientes ha motivado que otras comorbilidades que con frecuencia complican la infección por el VIH como la hepatitis crónica por virus de la

hepatitis C cobren especial protagonismo en la era TARGA, de este modo la cirrosis hepática, se ha erigido en una de las causas más importantes de morbimortalidad en esta población [5-9].

2. Hepatopatías en pacientes infectados por el VIH

La presencia de cierto grado de lesión hepática en el paciente infectado por el VIH es un hecho frecuente, normalmente como consecuencia de la existencia de coinfección por los virus de la hepatitis B (VHB) ó C (VHC) [10], por la ingesta de alcohol, de esteatohepatitis no alcohólica, enfermedades autoinmunes, lesiones por fármacos o daño por reconstitución inmune. Los virus de la hepatitis comparten vías de transmisión con el VIH [11, 12], por ello la prevalencia de hepatitis crónica viral está aumentada en los individuos infectados por el VIH. En España el 65 y 5% de estos pacientes presentan respectivamente coinfección por el VHC y por el VHB [13]. Además, la coexistencia de una coinfección por un virus de la hepatitis y el VIH en un mismo individuo puede producir interferencias bidireccionales entre ambos agentes, que hacen muy complejo el manejo de estas personas. En segundo lugar, el consumo de más de 50 g/día de etanol es reconocido por un tercio de los pacientes con hepatitis virales e infección por el VIH [14]. Por otra parte, la prevalencia de esteatosis hepática de origen no alcohólico, está aumentada en los pacientes infectados por el VIH,

pudiendo evolucionar hacia estadios avanzados de enfermedad hepática [15].

El paciente infectado por el VIH portador de una hepatopatía crónica presenta rasgos peculiares que pueden modificar su manejo clínico. En estos individuos, particularmente cuando desarrollan enfermedad hepática en fase terminal, el metabolismo de los fármacos antirretrovirales puede verse alterado [16, 17] ya que, las tasas de metabolización de los fármacos en esta situación clínica pueden llegar a reducirse de forma significativa [18]. Todo ello puede motivar que en pacientes con enfermedad hepática avanzada se requiera el ajuste de dosis de algunos fármacos antirretrovirales. Recientemente se ha comunicado que la determinación de niveles plasmáticos de fármacos antirretrovirales no mejora el resultado del TARGA [19]. Sin embargo los resultados de este estudio no pueden ser extrapolable al escenario del paciente con enfermedad hepática avanzada [15].

2.1. Co-infección por VHC/VHB

2.1.1. *Co-infección por VHC*

Alrededor del 30% de los pacientes infectados por el VIH están coinfectados por el VHC en Europa occidental y Estados Unidos [20, 21], llegando al 70-90% en algunos grupos especiales como los usuarios de drogas por vía parenteral (UDVP) [3]. Las

complicaciones de la hepatopatía crónica por VHC se han convertido en la principal causa de hospitalización y de muerte en pacientes infectados por el VIH en la era post-TARGA [7].

La fibrosis hepática (FH) en la hepatopatía crónica por VHC sigue una evolución acelerada en los pacientes con infección por el VIH, en comparación con los pacientes sin esta coinfección [22]. Las elevadas tasas de progresión de la fibrosis que se observan en la coinfección por el VIH/VHC se traducen clínicamente en un curso más rápido de la hepatopatía crónica en sus distintas fases. En primer lugar, el tiempo de evolución a cirrosis se acorta hasta la tercera parte, el riesgo de desarrollar cirrosis se duplica y el de presentar una descompensación de la cirrosis aumenta en seis veces [23]. En segundo lugar, una vez establecida la cirrosis por el VHC, después de la primera descompensación de la hepatopatía, la supervivencia de los pacientes infectados por el VIH está intensamente acortada [24]. No está claro cuáles son los factores que determinan la progresión acelerada de la FH en la infección por el VIH. El sexo no parece influir en el curso de la enfermedad hepática [14, 22, 25-27], como parece hacerlo en los pacientes no infectados por el VIH. La edad más avanzada en el momento de la infección por el VHC se ha relacionado con una progresión más rápida de la fibrosis [14, 22, 26, 27]. Sólo algunos trabajos han encontrado una relación entre la evolución de la FH y consumo de alcohol en pacientes co-infectados por VIH-VHC [22, 27, 28]. En

cuanto al propio VHC, parece que el genotipo 3 está relacionado con un incremento de la progresión de FH en pacientes infectados por el VIH [29]. En lo referente a variables relacionadas con la infección por el VIH, un recuento bajo de células CD4 se ha asociado sistemáticamente con la progresión acelerada de la enfermedad hepática [14, 22, 30, 31].

Además, como se ha manifestado previamente, los pacientes con hepatopatía crónica presentan con frecuencia problemas relacionados con el uso de fármacos que se metabolizan en el hígado. De tal manera, todos los fármacos antirretrovirales pueden ser potencialmente hepatotóxicos, como se ha documentado en numerosos estudios [32, 33]. La frecuencia de hepatotoxicidad grave (definida como una elevación > 5 veces el límite superior de la normalidad de alaninoaminotransferasa (ALT) y/o aspartatoaminotransferasa (AST), según el criterio empleado por los AIDS Clinical Trials Group) ó un incremento superior a 3,5 veces el valor basal en caso de elevación de las transaminasas basales [34], en los pacientes co-infectados está en torno al 10%, mientras que en los pacientes infectados únicamente por el VIH es aproximadamente del 5%. En esta población la presencia del VHC es un factor de riesgo que aumenta de 2 a 10 veces las posibilidades de desarrollar elevación de enzimas hepáticas durante el TAR [35]. Sin embargo, el desarrollo de fallo hepático como consecuencia de la hepatotoxicidad secundaria a TAR, es raro,

aproximadamente 1 caso por 100 a 1.000 personas/año, y generalmente sucede en pacientes con hepatopatía avanzada subyacente [35]. Aunque, hay que tener en cuenta que, la toxicidad hepática vinculada a prácticamente todos los regímenes de TARGA podría empeorar la evolución de la FH [36].

2.1.2. Co-infección por VHB

El VHB es un virus DNA perteneciente a la familia de los hepadnavirus. Existe una elevada prevalencia de infección por VHB en pacientes infectados por el VIH, tanto en el momento del diagnóstico de la infección por VIH como durante la evolución de ésta, debido al mantenimiento de prácticas sexuales de riesgo [37]. El efecto del VHB sobre el pronóstico del VIH no está claro. Mientras algunos estudios han sugerido que podría inducir una progresión más rápida a SIDA y una menor supervivencia, otros trabajos no han objetivado ninguna asociación entre co-infección por VHB, depleción de linfocitos CD4 o mortalidad [38]. Por el contrario, el VIH sí parece modificar el curso de la infección por VHB. La inmunodepresión asociada a la infección por el VIH da lugar en los pacientes infectados por el VHB a mayores tasas de cronicidad y aumenta la replicación del VHB [39]. A pesar de que los valores de ADN del VHB son mayores, la inflamación hepática tiende a ser menos intensa en los pacientes co-infectados por el VIH/VHB. Sin

embargo, la progresión de la FH es más rápida en los pacientes co-infectados [40], posiblemente por la facilitación de la replicación del VHB. Debido a ello, el riesgo de desarrollar enfermedad hepática avanzada es mayor en los pacientes infectados por el VIH con hepatitis B crónica que en los no co-infectados [41]. Finalmente, la mortalidad de causa hepática está incrementada entre los pacientes con hepatitis B crónica e infección por el VIH1. Por el contrario, el TAR previene la muerte por enfermedad hepática avanzada en los pacientes coinfectados por el VIH y el VHB [42].

2.2. Hepatotoxicidad por antirretrovirales

La hepatotoxicidad es una de las causas más frecuentes de suspensión del TAR [43], lo cual dificulta el mantenimiento de la supresión viral prolongada de la infección por VIH y genera visitas médicas y pruebas diagnósticas que incrementan el gasto sanitario. Su incidencia ha aumentado en los últimos años, así, en EEUU la retirada del TAR por toxicidad hepática pasó del 6% en 1996 al 32% en 1999 [7]. La hepatotoxicidad puede tener gravedad diversa. En algunos casos cursa con ausencia de síntomas y resolución espontánea, mientras que en otros puede evolucionar a fallo hepático agudo con desenlace mortal [44, 45]. La hepatotoxicidad grave tras iniciar TARGA ocurre en un 10-15% de los pacientes, según las series [46-48].

La posibilidad de toxicidad hepática se plantea cuando en el perfil bioquímico se objetivan alteraciones de los parámetros relacionados con el hígado. Se definen distintos patrones según predomine la elevación de transaminasas, en cuyo caso se denomina hepatocelular; el incremento de las enzimas de colestasis, denominándose entonces colestásico y mixto si hay aumento de todos los parámetros. Existe cierta disparidad entre los distintos estudios acerca de la gradación de la hepatotoxicidad, aunque la más aceptada es la escala de los AIDS Clinical Trials Group [34] que ya hemos comentado con anterioridad.

Sin embargo algunas enfermedades hepáticas que con frecuencia se asocian a la infección por VIH pueden producir elevación de enzimas hepáticas dificultando el diagnóstico de reacción adversa a fármacos antirretrovirales. Entre ellas, hepatitis por los virus A, B, C y D, el citomegalovirus y el virus de Epstein-Barr, así como algunos fármacos de uso frecuente en estos pacientes (cotrimoxazol, isoniazida), el abuso de alcohol, consumo de drogas con perfil hepatotóxico, litiasis biliar, hemocromatosis y el déficit de alfa-1-antitripsina.

La hepatotoxicidad hepática, sobre todo la grave, es claramente más frecuente en sujetos tratados con TARGA co-infectados por VHC y/o VHB [49], sin embargo las consecuencias de la elevación de enzimas hepáticas tras iniciar TARGA en pacientes co-infectados no se conoce bien.

Hay varios mecanismos de hepatotoxicidad asociada al uso de antirretrovirales, entre ellos destacamos, la toxicidad directa dosis-dependiente, habiéndose objetivado en este sentido una correlación entre los niveles plasmáticos de nevirapina (NVP) y el daño hepático [50]. Las reacciones idiosincrásicas en las que, los hepatocitos ponen en marcha mecanismos de citoprotección frente al estrés oxidativo desencadenado por el metabolismo de los fármacos [51]. Las reacciones de hipersensibilidad no se relacionan con la dosis del fármaco y están predisuestas por factores genéticos del huésped. NVP y abacavir (ABC) son ejemplos de antirretrovirales que producen hepatotoxicidad por este mecanismo [52, 53]. La toxicidad mitocondrial que produce esteatosis hepática microvesicular y que puede evolucionar a esteatosis macravesicular, necrosis focal, fibrosis, colestasis, proliferación de los ductos biliares y aparición de cuerpos de Mallory. Los ITIAN son potencialmente tóxicos para la mitocondria debido a su capacidad de inhibir la ADN polimerasa gamma, la enzima responsable de la replicación del ADN mitocondrial [54, 55]. Por último, la administración de TAR en pacientes co-infectados por VIH-VHC/B gravemente inmunodeprimidos, puede producir la aparición de hipertransaminasemia e incluso hepatitis sintomática como consecuencia de un síndrome de reconstitución inmune [56, 57].

3. Fibrosis hepática

La FH es el resultado de la respuesta biológica hepática a una agresión crónica con el consiguiente remodelado de la estructura del hígado. Así, en los pacientes con infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC) el hígado responde al daño producido por este agente externo, desarrollando una respuesta inflamatoria con aparición de fibrogénesis. Inicialmente, la fibrogénesis es un proceso dinámico que trata de reparar el daño originado por una agresión externa y que se caracteriza por la síntesis de moléculas de la matriz extracelular, proteínas (colágeno y elastina), glicoproteínas (fibronectina y laminina) y proteoglicanos organizados e interconectados. Esta síntesis está compensada por los mecanismos de fibrinólisis que destruyen esta matriz [58, 59]. Estos mecanismos no órgano-específicos, tienen como objetivo detener el daño producido por las agresiones externas, sin embargo, cuando se perpetúan en el tiempo, tienen como resultado un desbalance entre fibrogénesis y fibrinólisis a favor de la fibrogénesis, y en consecuencia una acumulación de matriz extracelular que origina una destrucción de la arquitectura hepática [60]. En resumen, la fibrogénesis, inicialmente desarrollada por el organismo como un proceso beneficioso, puede llegar a ser perjudicial para éste, si persiste la agresión externa. La fibrogénesis está directamente relacionada con la activación de las células estrelladas hepáticas [61]. En presencia de daño hepático, estas

células adquieren un fenotipo similar al de los fibroblastos y producen y remodelan la matriz extracelular [62]. Varios factores se han implicado en la fibrogénesis hepática: citoquinas, quimioquinas, receptores de matriz extracelular, moléculas de adhesión, endotelina, norepinefrina, inhibidores de metaloproteinasa y factores de crecimiento. El TGF- β . (platelet derived growth factor) y citoquinas como la Interleuquina (IL) 10, la IL-13 y la angiotensina II, juegan un papel relevante en la activación de las células estrelladas [63].

3.1. Clasificación de la fibrosis hepática

La biopsia hepática es por lo general necesaria e importante para evaluar la extensión de la actividad de necrosis e inflamación y de la fibrosis. Sin embargo, la evaluación cualitativa de la FH y de la actividad se ve muy limitada por la variabilidad inter-observador.

Debida a la necesidad de realizar una evaluación objetiva de los hallazgos de fibrosis y actividad en los ensayos clínicos controlados de regímenes terapéuticos, se han desarrollado numerosos sistemas de estadiaje o gradación de las lesiones anatomopatológicas. Los hallazgos anatomopatológicos ofrecen evidencia directa de dos aspectos importantes: el grado de actividad necroinflamatoria ("grado" de enfermedad) y la cantidad de fibrosis, la medida de los cambios arquitecturales y de la

presencia de cirrosis ("estadio" de enfermedad). El grado de inflamación fluctúa con el tiempo, mientras que el estadio de fibrosis es consecuencia del proceso de necrosis. Cada sistema de gradación asigna una puntuación numérica a cada una de las tres principales alteraciones encontradas en la hepatitis crónica viral:

- Inflamación de los tractos portales
- Necrosis y apoptosis del parénquima
- Fibrosis hepática

De este modo, las diferentes biopsias se pueden comparar más rápidamente. Pero existen al menos cuatro problemas importantes asociados con la puntuación histológica:

1º.- Aunque la puntuación puede representar una progresión lineal, las diferencias de gravedad de la lesión pueden no representarse por la puntuación.

2º.- Algunos sistemas de puntuación, mezclan la inflamación con la fibrosis y la puntuación total de dos biopsias puede ser la misma, pero no el grado de lesión histológica.

3º.- El resultado de la puntuación recae en extrapolar los hallazgos de un pequeño fragmento de tejido a un órgano que pesa más de 1,5 kg., y aunque en el caso de la hepatitis crónica por virus C, la lesión suele ser muy uniforme en todo el órgano, a diferencia de otras enfermedades como la cirrosis biliar primaria, una única biopsia y su puntuación pueden no ser representativas del órgano entero.

4º.- Hay que tener en cuenta que el pronóstico de la enfermedad no debe basarse exclusivamente en la gravedad del daño hepático en el momento de la biopsia, ya que otros factores pueden influir, como son la duración de la infección, el abuso de alcohol, etc.

Los sistemas de puntuación de los hallazgos anatomopatológicos en la biopsia hepática más importantes y más usados de la literatura son, la puntuación HAI (Histology Activity Index) o Índice de Knodell (tabla 1) [64] , que es la puntuación combinada para necrosis, inflamación y fibrosis; la puntuación HAI (Histology Activity Index) modificada (también llamada Índice Ishak) (tabla 2) [65], que evalúa la gradación de la puntuación necroinflamatoria y estadiaje de la fibrosis por separado y el sistema METAVIR (tabla 3) [66], que también evalúa la fibrosis y actividad histológica de manera independiente. El sistema de Scheuer (tabla 4) es menos completo que la puntuación HAI, dando la misma importancia a la actividad lobular y porta y agrupa las lesiones periportales y portales en una única categoría [67].

Tabla 1: Puntuación HAI (Histology Activity Index) o Índice de Knodell

I. Necrosis periportal +/- en puentes	
A. Ninguna	0
B. Necrosis "piecemeal" leve	1
C. Moderada necrosis "piecemeal" (<50% de la circunferencia de la mayoría de los tractos portales)	3
D. Marcada necrosis "piecemeal" (>50% de la circunferencia)	4
E. Moderada necrosis "piecemeal" más necrosis en puentes	5
F. Marcada necrosis "piecemeal" más necrosis en puentes	6
G. Necrosis multilobular	10
II. Degeneración intralobular y necrosis focal	
A. Ninguna	0
B. Leve (cuerpos acidófilos, degeneración en balón y/o focos de necrosis hepatocelular en <1/3 de lóbulos)	1
C. Moderada (afectación de 1/3 a 2/3)	3
D. Marcada (afectación de >2/3)	4
III. Inflamación Portal	
A. Sin inflamación	0
B. Leve (células inflamatorias en <1/3 de tractos portales)	1
C. Moderada (1/3-2/3)	3
D. Marcada (>2/3)	4
IV. Fibrosis	

Fibrosis hepática de origen incierto en pacientes infectados por el VIH: prevalencia y factores asociados

A. Sin fibrosis	0
B. Expansión de fibrosis portal	1
C. Fibrosis en puentes (porto-portales o porto-centrales)	3
D. Cirrosis	4

Tabla 2: Puntuación HAI (Histology Activity Index) Modificada (también llamada Índice Ishak)

<u>Gradación de la puntuación necroinflamatoria</u>	
A.- Hepatitis de interfase periportal o periseptal ("piecemeal" necrosis)	
Ausente	0
Leve (focal, pocas áreas portales)	1
Leve-moderada (focal, la mayoría de áreas portales)	2
Moderada (<50% de tractos o septos)	3
Grave (>50% de tractos o septos)	4
B.- Necrosis confluyente	
Ausente	0
Necrosis focal confluyente	1
Necrosis de la zona 3 en algunas áreas	2
Necrosis de la zona 3 en la mayoría de las áreas	3
Necrosis de la zona 3 y ocasionales puentes portal-central	4
Necrosis de la zona 3 y múltiples puentes portal-central	5
Necrosis panacinar o multiacinar	6
C.- Necrosis lítica focal, apoptosis e inflamación local	
Ausente	0
Un foco o menos por objetivo 10x	1
Dos a cuatro focos por objetivo 10x	2
Cinco a 10 focos por objetivo 10x	3

Fibrosis hepática de origen incierto en pacientes infectados por el VIH: prevalencia y factores asociados

Más de 10 focos por objetivo 10x	4
D.- Inflamación Portal	
Ninguna	0
Leve, alguna o todas las áreas portales	1
Moderada, alguna o todas las áreas portales	2
Moderada/Marcada, todas las áreas portales	3
Marcada, todas las áreas portales	4
<u>Puntuación máxima posible</u>	18
<u>Gradación de los cambios arquitecturales, fibrosis y cirrosis</u>	
Sin fibrosis	0
Fibrosis algunas áreas portales, con/sin septos fibrosos cortos	1
Fibrosis áreas portales, con o sin septos fibrosos cortos	2
Fibrosis áreas portales, ocasionales puentes porto-portales	3
Fibrosis áreas portales, puentes porto-portales+portocentrales	4
Puentes porto-portales+porto-centrales, nódulos ocasionales	5
Cirrosis, probable o definida	6
<u>Máxima puntuación posible</u>	6

Tabla 3: Sistema METAVIR

Algoritmo para la evaluación de la actividad histológica		
<u>"Piecemeal" necrosis</u>	+ <u>Necrosis lobular</u>	= <u>Puntuación de actividad histológica</u>
0 (ninguna)	0 (ninguna o leve)	0 (ninguna)
0	1 (moderada)	1 (leve)
0	2 (grave)	2 (moderada)
1 (leve)	0, 1	1
1	2	2
2 (moderada)	0, 1	2
2	2	3 (grave)
3 (grave)	0, 1, 2	3
Puntuación de fibrosis		
<u>Puntuación</u>	<u>Descripción</u>	
0	Sin fibrosis	
1	Tractos portales aumentados en forma estrellada, pero sin formación de septos	
2	Aumento de los tractos portales con rara formación de septos	

Tabla 4: Sistema Scheuer

<u>Gradación de la actividad portal/periportal</u>	
Ausente ó mínima	0
Inflamación portal	1
Necrosis "piecemetá" leve	2
Necrosis "piecemetá" moderada	3
Necrosis "piecemetá" severa	4
<u>Gradación de la actividad lobular</u>	
Ausente	0
Inflamación pero no necrosis	1
Necrosis focal ó cuerpos acidófilos	2
Daño celular severo	3
Daño que incluye puentes de necrosis	4
<u>Gradación de la fibrosis</u>	
Ausente	0
Tractos fibrosos portales	1
Septos periportales ó porto-portales pero con arquitectura intacta	2
Fibrosis con distorsión arquitectural pero no clara cirrosis	3
Cirrosis probable o definida	4

4. Fibrosis hepática de origen incierto

Recientemente se han documentado en sujetos con infección por el VIH casos de FH, incluyendo la presencia de afectación hepática grave e incluso, cirrosis descompensada, de causa desconocida [68]. Esta entidad, que podríamos denominar fibrosis hepática de origen incierto (FHOI), es extremadamente infrecuente en la población general, con una tasa de prevalencia menor del 0.01% [69-71]. La prevalencia de la FHOI en pacientes infectados por el VIH se encuentra entre el 0.3-17% [5, 6, 68]. Esta amplia variabilidad en los resultados obtenidos en los distintos estudios puede ser debida a los distintos criterios empleados para su definición. Así, en una amplia cohorte de 3200 pacientes infectados por el VIH la prevalencia de FHOI fue del 0,5% siendo esta definida por la existencia de una elevación crónica de las transaminasas [68]. El mismo grupo de investigadores recientemente ha comunicado una prevalencia de FHOI del 17% en 1307 pacientes, al definir la existencia de FHOI mediante criterios elastográficos [5]. Utilizando estos últimos métodos, Merchante y cols objetivaron una prevalencia de FHOI de 9.7% en una cohorte de 62 pacientes [6]. De la misma manera, los posibles factores asociados al desarrollo de FHOI, varían entre los estudios previamente comentados. Barreiro y cols identificaron el TAR (TAR) como posible causa de FHOI, especialmente el uso de didanosina (ddI) y estavudina (d4T)

[5], resultados que concuerdan con los de Maida y colaboradores, en el que se observó que la exposición prolongada a ddI podría estar asociada al desarrollo de FHOI [68]. La causa mediante la cual d4T y ddI podría provocar FHOI podrían ser por la depleción de DNA mitocondrial en el tejido hepático y la toxicidad mitocondrial secundaria a ello [72]. En cambio, Merchante y colaboradores no han demostrado relación entre el TAR y la aparición de FHOI, encontrando asociación entre ésta última y el consumo excesivo de alcohol [6]. Otro de los motivos que podrían haber condicionado las discrepancias en los resultados obtenidos en los diferentes estudios es el número de pacientes incluidos en los mismos. Así, Merchante y cols incluyeron a 62 sujetos, mientras que el número de pacientes evaluados por Barreiro y cols fue de 1307 y 3200 pacientes [5, 6].

4.1. Fibrosis hepática y alcohol

El consumo de alcohol es una práctica común entre los pacientes infectados por el VIH. En EEUU, alrededor del 8% de estos sujetos tienen un consumo excesivo de alcohol y el 33% bebe alcohol de forma leve o moderada [73]. El consumo oculto de alcohol es una causa frecuente de cirrosis criptogénica [74]. Y como hemos comentado con anterioridad un estudio identificó al abuso de alcohol como la causa principal de FHOI en pacientes con infección por el VIH [6].

El consumo excesivo de alcohol es causa de enfermedad hepática aguda y crónica [75-77]. El etanol se metaboliza en el hepatocito y en las células estrelladas para generar acetaldehído y otros metabolitos. El etanol y sus metabolitos activan las células estrelladas. Ello da lugar a la inducción de estrés oxidativo y expresión de factor de crecimiento tisular beta 1 (TGFβ1) que activa la producción de colágeno I. Como resultado, el etanol aumenta la producción de proteínas de la matriz extracelular. El alcohol también estimula la producción de otros mediadores pro-fibróticos, incluidas la interleuquina 6 (IL-6), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y activador del plasminógeno tipo uroquinasa (uPA). Estos efectos juegan un papel muy importante en el desarrollo de FH asociada a alcohol.

4.2. Fibrosis hepática y esteatosis hepática no alcohólica

La esteatosis hepática no alcohólica, es decir, la acumulación de lípidos en el citoplasma del hepatocito (fundamentalmente triglicéridos), afecta entre el 30-40% de los pacientes con infección por el VIH [78], pudiendo dar lugar a la aparición de FHOI y cirrosis criptogénica. Esta entidad consiste en un espectro de hallazgos histológicos que incluyen esteatosis macrovesicular, esteatosis no alcohólica, fibrosis y cirrosis hepática [15]. En general, aquellos pacientes que tienen únicamente esteatosis, tienen un curso benigno, pero algunos de ellos pueden progresar a estadios más

avanzados de enfermedad hepática [79]. Es sabido que, en pacientes co-infectados por VIH-VHC, la esteatosis hepática está asociada a mayor progresión a FH [29, 80]. La patogénesis de esta alteración es compleja pero la resistencia a la insulina y estrés oxidativo asociados con peroxidación lipídica son probablemente los principales factores contribuyentes [29, 81, 82]. No está totalmente aclarado si, la esteatosis hepática no alcohólica, aparece como resultado de la obesidad y estilo de vida de los pacientes o se desarrolla a causa del TAR. Los fármacos antirretrovirales tienen un efecto deletéreo sobre el control glucémico, metabolismo lipídico, distribución de la grasa corporal (lipohipertrofia, lipoatrofia, obesidad central), resistencia a la insulina y toxicidad mitocondrial [83-86]. En pacientes con co-infección por VIH-VHC la aparición de esteatosis hepática se asoció al uso de ITIAN [29]. En un estudio publicado recientemente, no se observó relación entre la aparición de esteatosis de origen no alcohólico y obesidad en pacientes infectados por el VIH y controles negativos, por lo que postulan que esta alteración podría ser secundaria a los efectos adversos derivados del TAR o a la propia infección por el VIH [15].

4.3. Fibrosis hepática y VIH

El VIH está involucrado en un gran número de complicaciones hepáticas, no obstante, su grado de implicación como agente etiológico de FH no es bien conocido y podría ser un

agente causante de FHOI. Las células de Kupffer , que juegan un papel principal en la fibrogénesis hepática, son la primera población de células diana infectadas por el VIH in vivo [87]. Así como, la infección por el VIH de los macrófagos del pulmón y del cerebro se han asociado al desarrollo de neumonía intersticial en niños y encefalopatía, la infección de las células de Kupffer en el hígado no se ha relacionado con ningún síndrome conocido. La patogénesis del daño hepático en el curso de la infección por este retrovirus se ha investigado en macacos, que se ha probado como el modelo animal en el que la infección por el VIH sigue un curso más parecido al ser humano. En este modelo, el número de células de Kupffer infectadas y su contenido en proteínas virales y sus lesiones histológicas, se incrementan con la progresión de la infección. Además, las células de Kupffer infectadas producen citoquinas e infiltrado inflamatorio alrededor de la triada portal [58]. A pesar de esto, en otros estudios no se ha demostrado esta relación [68].

5. Métodos evaluación de fibrosis hepática

5.1. Biopsia hepática

La biopsia hepática es una importante herramienta de evaluación en los pacientes con hepatopatía crónica secundaria a infección por el VHC. El pronóstico y el manejo clínico de las enfermedades hepáticas crónicas, dependen directamente de la

extensión de la FH, ya que, las complicaciones ocurren habitualmente en estadios muy avanzados de la enfermedad [88]. La biopsia hepática es considerada como la prueba de referencia para el diagnóstico de FH en estos individuos [10, 89] aunque habitualmente se basa en una muestra que representa 1/50000 del total de la masa hepática [90]. Evita el tratamiento en aquellos pacientes cuya enfermedad hepática es poco probable que progrese. Sin embargo, es un procedimiento invasivo y se asocia a complicaciones en ocasiones graves (dolor, sangrado, pneumotórax, hemotórax, peritonitis biliar, hemobilia, punción de riñón e intestino, infecciones, ansiedad) [90-95]. Entre el 0.6% y el 5% de los pacientes que se someten a una biopsia hepática desarrollan complicaciones incluso la muerte [96, 97] y dada la dificultad y molestias que genera en los pacientes no es una técnica que pueda ser utilizada cuando son necesarios exámenes repetidos [98]. Además, este método tiene una serie de limitaciones, ya que presenta una variabilidad intra e interobservador significativa [99]. Incluso en los casos en los que un profesional experimentado realiza la biopsia hepática y un patólogo experto interpreta los resultados, este procedimiento puede llegar a tener una tasa de diferencia en estadiaje de hasta un 20 % [100].

Aunque el uso de sistemas estandarizados de evaluación de biopsias hepáticas ha reducido la variabilidad interobservador, la variabilidad de las muestras continúa siendo un problema [101]. De

hecho, Regev y cols, encontraron que las biopsias con aguja realizadas en lóbulos hepáticos derecho e izquierdo del mismo hígado, pueden diferir en el estadiaje en un tercio de los pacientes con infección crónica VHC tras ser evaluadas por el mismo observador [102]. Asimismo, Siddique y colaboradores, demostraron una diferencia en el 45% de los pacientes, en al menos un estadio de fibrosis entre dos muestras (de al menos 15 mm de longitud) obtenidas en el mismo lugar de punción [103]. Aunque había sido aceptada una longitud igual o superior a 1.5 cm, como un tamaño adecuado de los fragmentos para la interpretación de una biopsia percutánea [104], recientemente, en un estudio con análisis por imagen, Bedossa y cols señalaron que las biopsias hepáticas deberían tener una longitud de al menos 2.5 cm para poder emitir un diagnóstico de seguridad en el 80% de los casos [105]. Sin embargo, muchas biopsias tienen un tamaño inferior a éste. Finalmente, Colloredo y cols, han observado que se produce una infravaloración del grado de FH a medida que el tamaño de la biopsia disminuye y que ello podría minimizarse obteniendo una muestra de mayores dimensiones o bien, dos muestras de tejido hepático [106].

5.2. Marcadores serológicos

Algunos marcadores séricos tanto directamente implicado en el remodelado que tiene lugar en la FH, como aquellos alterados como consecuencia de ésta, parecen estar correlacionados con el grado de FH [107, 108]. Más recientemente, se han descrito algunos test para evaluación de fibrosis diseñados mediante modelos estadísticos [109-118]. El Fibrotest combina concentraciones séricas de macroglobulina alfa 2, haptoglobina, GGT, bilirrubina y apolipoproteínas A1 [113]. Forns y colaboradores [114] publicaron un score que combinaba edad, GGT, colesterol y plaquetas. El Hepascore combina bilirrubina, GGT, ácido hialurónico, macroglobulina alfa 2, edad y sexo [115]. El APRI es el test más sencillo basado en los niveles séricos de AST y recuento plaquetario [116]. Cales y colaboradores [117] propusieron otro test denominado Fibrometer, combinando ácido hialurónico, tiempo de protrombina, plaquetas, AST, macroglobulina alfa 2, urea y edad, la fórmula está ajustada según la causa de la enfermedad hepática. El test MP3 combina procolágeno tipo III (PIIINP), un marcador de fibrogénesis, y la matriz de metaloproteinasa 1 (MMP-1) que está implicada en la fibrosis [118, 119]. Todos estos test serológicos se diseñaron para discriminar entre pacientes con fibrosis significativa (\geq F2) estimando el diagnóstico de seguridad mediante curvas ROC que variaron entre 0.76 y 0.96. Todos ellos se han utilizado para evaluar el grado de FH en pacientes con hepatopatía crónica por [120].

El FibroTest también pronostica con precisión la FH en personas con la coinfección por el VHC/VIH como se demuestra en un artículo realizado con 130 pacientes coinfectados, obteniendo valores predictivos elevados para grados de FH situados entre F2-F4. Utilizando valores de corte de 0.60, el VPP para fibrosis septal fue del 86% y scores del 0.20 o menores tuvieron un VPN del 93%. Si la biopsia hepática se utilizara exclusivamente en los valores intermedios, con valores predictivos subóptimos, la indicación de biopsia hepática se reduciría a un 55% con un 89% de seguridad. [121].

Recientemente, para los pacientes co-infectados por VIH/VHC, se ha propuesto un nuevo test (FIB-4) (tabla 5) que incluye parámetros como la edad, AST y recuento plaquetario. Un valor ≥ 3.25 es diagnóstico de cirrosis hepática [122, 123].

No hay evidencias acerca de la utilidad de estos marcadores en pacientes con infección por el VIH y FHOI, sin embargo los marcadores serológicos como el fibrotest, el ácido hialurónico y el recuento plaquetario, han demostrado su utilidad para predecir la existencia de FH severa y cirrosis, en pacientes con enfermedades hepáticas no virales (esteatosis hepática no alcohólica) [124, 125].

5.3. FibroScan

La cuantificación de la FH por métodos no invasivos ha estimulado la búsqueda de nuevas herramientas. La elastometría hepática transitoria (FibroScan® [FS], Echosens, París, Francia) es un método novedoso que permite evaluar de forma rápida y no invasiva el grado de rigidez hepática [10, 102]. El sistema FS está compuesto por un transductor de ultrasonidos acoplado sobre el eje de un vibrador. Éste genera una vibración de baja frecuencia y amplitud que provoca una onda elástica de propagación a través de los tejidos. Las señales de ultrasonidos permiten determinar la propagación y velocidad de la onda elástica y la relacionan directamente con la elasticidad tisular y su inversa, la fibrosis. El FS mide la FH de un cilindro de aproximadamente 1 cm de diámetro por 2 cm de longitud, el cual es 100 veces mayor que las muestras obtenidas habitualmente para las biopsias hepáticas, y, por tanto, es mucho más representativo de la totalidad del parénquima hepático.

La utilidad del FS como método para cuantificar el grado de FH ha sido demostrada en pacientes con hepatopatía crónica de diversas etiologías (infección por VHC, VHB, co-infección VIH-VHC, etilismo, esteatohepatitis no alcohólica, hemocromatosis, enfermedad hepática colestásica...) [126]. Foucher y colaboradores, tras analizar 2114 medidas de rigidez hepática realizadas mediante FS, concluyeron que la elastometría hepática es un buen método de evaluación de FH, que es realizable en más del 95% de los

pacientes. El índice de masa corporal (IMC) fue el único factor asociado al fracaso para determinar el grado de FH mediante FS, ya que, en pacientes con sobrepeso, el acúmulo de grasa a nivel torácico atenúa tanto las ondas elásticas, como los ultrasonidos, ocasionando el que la medida de la rigidez hepática sea imposible [127].

5.3.1. FibroScan en pacientes monoinfectados por VHC

Amplias evidencias avalan la utilidad del FS en pacientes con hepatitis crónica por VHC sin infección por VIH [128, 129].

En un estudio prospectivo realizado recientemente, que incluyó 935 pacientes con infección crónica por VHC, se evaluó el grado de FH mediante FS y comparándolo con los resultados obtenidos en la biopsia hepática. Los autores afirman que la elastometría hepática transitoria, es un método útil para el diagnóstico de cirrosis hepática, fácilmente realizable independientemente de la experiencia del operador, la edad o el IMC de los pacientes [128]. Su utilidad también ha sido validada en pacientes con hepatopatía crónica VHC determinada mediante biopsia hepática, con valores plasmáticos de aminotransferasa (ALT) normales o cercanos a la normalidad [130]. Sandrin y colaboradores observaron que la elastometría hepática transitoria es una técnica reproducible con únicamente un coeficiente de variabilidad del 3% no dependiente del operador [129]. Castera y

colaboradores proponen un algoritmo de actuación en pacientes con hepatopatía crónica por VHC mediante la determinación de FH a través de la combinación de elastometría transitoria y Fibrotest, de manera que la biopsia hepática, podría evitarse en el 77% de los pacientes [131].

5.3.2. FibroScan en pacientes co-infectados por VIH-VHC

Recientemente, se ha evaluado la utilidad del FS para el diagnóstico de FH en pacientes por infección por el VIH [132, 133]. En un estudio prospectivo y multicéntrico de 251 pacientes con hepatitis crónica C (13 coinfectados por el VIH) se objetivó una correlación positiva entre la elasticidad hepática obtenida por FS y los distintos estadios de fibrosis. [132]. Lédighen y colaboradores observaron que, al igual que en los pacientes VIH negativos, FS puede predecir la aparición de FH en co-infectados por VIH-VHC. El diagnóstico de cirrosis realizado por elastometría fue bueno, comparado con los datos procedentes de la biopsia hepática y similar al realizado en pacientes mono-infectados por VHC. En los casos no concordantes entre los resultados obtenidos mediante FS y biopsia hepática con score METAVIR [134], la elastometría transitoria tendía a sobreestimar el grado de fibrosis. Además, entre los distintos métodos no invasivos evaluados en este estudio, el FS obtuvo los mejores resultados en el diagnóstico de cirrosis hepática [133]. Recientemente, un estudio transversal que evaluó el grado

de elasticidad hepática de 169 pacientes coinfectados por VIH/VHC diagnosticados previamente de enfermedad hepática avanzada mediante biopsia hepática ó mediante diagnóstico no histológico (criterios clínicos, biológicos o por prueba de imagen) objetivó que el diagnóstico de seguridad de la elastografía hepática transitoria fue alto para F=4 y bueno para $F \geq 2$, pero fue bajo para discriminar la existencia de fibrosis inferior al estadio $F \geq 2$, lo que podría limitar la utilidad de esta técnica en la práctica clínica [10].

5.3.3. FibroScan en pacientes con infección por el VIH

La utilidad del FS para evaluar la presencia de FHOI en pacientes infectados por el VIH ha sido evaluada en algunos estudios [5, 6]. El primero de ellos, un estudio transversal realizado con 62 pacientes infectados por el VIH en el que la elastometría hepática transitoria tuvo una buena correlación con la presencia de fibrosis moderada-severa determinada mediante biopsia hepática [6]. Un segundo estudio, con un número de muestra de 1307 pacientes infectados por el VIH que fueron examinados mediante elastometría hepática transitoria, siendo este método útil como screening para el diagnóstico de FH avanzada y cirrosis hepática en esta población [5].

5.3.4. FibroScan: puntos de corte

Fibrosis hepática de origen incierto en pacientes infectados por el VIH: prevalencia y factores asociados

Se han propuestos diversos puntos de corte para intentar identificar a los pacientes con fibrosis leve, moderada y cirrosis hepática. En la tabla 5 se muestra un resumen de los diferentes puntos de corte en los diversos estudios realizados.

Tabla 5: Resumen de los diferentes puntos de corte para el diagnóstico de fibrosis significativa y cirrosis.

Autor	Etiología	Nº pacientes	Sistema estadiaje fibrosis	Grado fibrosis (FS) (kPa)			
				F ≥ 2		F ≥ 4	
Nitta	VHC	165	New Inuyama	7	0,88	12,1	0,9
Sandrin	VHC	106	Metavir	7,6	0,88		0,99
Salto	VHC	75	New Inuyama	7,8 (media)		34,0 (media)	
Castera	VHC	183	Metavir	7,1	0,83	12,5	0,95
Ziol	VHC	327	Metavir	8,8	0,79	14,6	0,97
Coletta	VHC con ALT normal	40	Metavir	8,74			
Ledinghen	VIH/VHC	72	Metavir	4,5	0,72	11,8-14,5	0,97
Ganne-Carrie	Varias	1007	Metavir			14,6	0,95
Foucher	Varias	711	Metavir	7,2	0,8	17,6	0,96
Corpechot	Cirrosis biliar primaria y colangitis esclerosante	101	Metavir	7,3	0,92	17,3	0,96
Shahmoradian	VHC	546	Metavir	8	0,83		0,95
Yoneda	Esteatosis no alcohólica	67	Brunt	6,65	0,876	17,0	0,997
Ueda	VHC	151	Metavir	7,1	0,81	12,5	0,92
Marcellin	VHB	170	Metavir e Ishak	7	0,81	10,3	0,92
Ueda	VHC	58	Metavir	7,1	0,81	12,5	0,92
Rigamonti	VHC-trasplante hepático	95	Metavir	7,9	0,85	12	0,9
Vargas	VHB/VHC	150	Scheuer	7,1	0,87	12,5	0,95
Carrion	VHC-trasplante hepático	124	Scheuer	8,5	0,9	12,5	0,98
Coco	VHB y VHC	228	Metavir	8,3	0,93	14	0,96
Franqueiii	etiologías diversas	200	Metavir	7,9	0,86	11,9	0,9

Gomez-Dominguez	Varias	94	Metavir	4,0	0,74	16	0,94
-----------------	--------	----	---------	-----	------	----	------

En pacientes infectados por el VIH con FHOI, el valor de corte utilizado para el diagnóstico de FH significativa (F2) fue de 7.2 kPa [6], para FH avanzada (F3) fue de 9.5 kPa y de 14 kPa para cirrosis hepática [5].

5.3.5. FibroScan y marcadores serológicos

Según las evidencias existentes, el FS ha demostrado ser similar e incluso superior a Fibrotest para el diagnóstico no invasivo de FH en pacientes con infección crónica por VHC [130, 131]. Demostrándose también su superioridad frente a APRI en pacientes con hepatopatía crónica de etiología diversa (AIPPharmacotherapy 2008 FS): En un estudio realizado con pacientes co-infectados por VIH/VHC, para el diagnóstico de cirrosis hepática, las áreas bajo la curva de la elastometría transitoria, fueron superiores a las obtenidas mediante el recuento plaquetario, ratio AST/ALT, APRI y FIB-4 [133]. Según los autores, esto podría deberse a que los valores utilizados (transaminasas, recuento plaquetario...) podrían verse modificados por factores como el TARGA, infección por el VIH o desnutrición.

II. HIPÓTESIS

Existe una proporción significativa de pacientes infectados por el VIH, sin marcadores de infección por virus de las hepatitis, que presentan enfermedad hepática con fibrosis significativa, incluyendo la presencia de cirrosis hepática. Existen factores, como el tratamiento con ciertos fármacos antirretrovirales, que se asocian a la presencia de esta hepatopatía.

IMPLICACIONES

Basado en los anteriores datos, cabe plantear la hipótesis de que:

La confirmación de que existe una prevalencia de FH en pacientes infectados por el VIH sin datos de infección por virus de las hepatitis superior a la presente en la población no infectada por el VIH podría ser de utilidad para delimitar la magnitud del problema.

La identificación de los factores de riesgo asociados a la presencia de esta hepatopatía podría ayudarnos a prevenir el desarrollo de esta patología.

III. OBJETIVOS

Los objetivos del presente estudio, necesarios para comprobar la hipótesis planteada, son las siguientes:

1. Determinar la prevalencia de FHOI en pacientes con infección por el VIH.
2. Analizar los factores de riesgo para el desarrollo de la misma.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

1. Diseño y población

Estudio multicéntrico de corte transversal, con análisis de casos y controles realizado en los hospitales universitarios Reina Sofía de Córdoba y Valme de Sevilla entre Septiembre y Junio de 2008.

2. Criterios de inclusión:

Los criterios de inclusión en el estudio fueron:

1. Pacientes \geq 18 años con infección por el VIH.
2. Pacientes con antígeno de superficie de VHB negativo.
3. Pacientes con anticuerpos frente al VHC negativos.

3. Criterios de exclusión

Los criterios de exclusión fueron:

1. Pacientes con diagnóstico previo de enfermedad hepática no vírica.
2. Pacientes con enfermedad sistémica concomitante.
3. Pacientes embarazadas o que no utilicen medios de contracepción seguros.
4. Pacientes no capacitados o incapaces de otorgar consentimiento legal.

4. Tamaño de la muestra

Para una frecuencia mínima esperada de 10% para un nivel de confianza del 95% y una potencia del 80%, el tamaño de la muestra debería ser al menos de 221 pacientes.

5. Variables e instrumentos de medida

- La variable primaria del estudio fue la presencia de FH definida como una determinación de elastometría hepática transitoria mayor de 7.2 Kilopascales (kPa), valor considerado como indicativo de FHOI. Las medidas fueron realizadas en el lóbulo hepático derecho con el paciente en posición de decúbito supino y con el brazo en abducción máxima. Para ello, la punta de la sonda se cubría con gel de transmisión y era colocada en el espacio intercostal a nivel del lóbulo hepático derecho del hígado. El operador, basándose en la imagen observada en la pantalla, localizaba una porción de hígado de al menos 6 cm de grosor libre de grandes estructuras vasculares. Una vez que el área de medida había sido localizada, el operador apretaba el botón de la sonda para obtener una determinación. Las medidas debían tener una profundidad entre 25-65 mm bajo la superficie de la piel. Las medidas que no tuvieron una

correcta onda de vibración o un correcto seguimiento de la propagación de la vibración fueron automáticamente desechadas por el software. Al menos diez medidas correctas se realizaron en cada paciente. Aquellas determinaciones con un porcentaje de éxito menor del 60% y con un rango intercuartílico superior al 30% de la media de rigidez hepática, fueron eliminadas. El resultado era expresado en kilopascales (kPa). El valor medio de las medidas consideradas como adecuadas fue guardado como representativo de la rigidez hepática de ese paciente. Todas las medidas fueron realizadas por operadores entrenados [135, 136].

- Variables demográficas: edad y sexo.
- Variables clínicas: ingesta diaria de alcohol e índice de masa corporal (IMC).
- Variables relacionadas con la infección por el VIH: categoría clínica de los CDC, carga viral, niveles de células CD4, nadir de CD4, fármacos antirretrovíricos recibidos anteriormente al estudio y duración del tratamiento con cada uno de ellos.
- En aquellos pacientes en los que se encontraron datos en el FS de FHOI, pese a que presentaron marcadores serológicos negativos de infección por VHB y VHC, se efectuó una determinación de ADN del VHB ó VHC. Asimismo, se determinaron como marcadores de hepatopatía alfa-1-

antitripsina, ceruloplasmina, ferritina, hierro, transferrina, índice de saturación de transferrina, autoanticuerpos (ANA, AMA, LKM)

- A aquellos pacientes en los que no se identificó una causa que justificara la presencia de FH tras la realización de las determinaciones citadas anteriormente, se les realizó una nueva determinación del grado de rigidez hepática mediante elastometría hepática transitoria por el mismo u otro observador. En caso de que en esta nueva determinación, se hubieran confirmado valores superiores a 7.2 kPa, se les propuso la realización de una biopsia hepática. Tras firmar el consentimiento informado los pacientes se sometieron a una biopsia percutánea bajo control de TAC. Una vez realizado el procesamiento de las muestras, la FH fue clasificada según el sistema de Scheuer [67]. En la biopsia hepática, además de cuantificarse el grado de fibrosis, se evaluaron otros aspectos como la actividad necroinflamatoria, el grado de esteatosis ó la presencia de datos orientativos de alguna etiología específica (hialina de Mallory, esteatosis macrovesicular...). Se incluyó también la longitud de la muestra expresada en milímetros. Las biopsias hepáticas fueron evaluadas por patólogos experimentados.

6. Análisis estadístico

Se elaboró una base de datos específica que incluyó como campo la variable primaria y el resto de las variables que se analizaron en el estudio y como registros a todos los pacientes. En primer lugar se efectuó una depuración de un análisis descriptivo de los datos usando técnicas de exploración y de análisis de frecuencias. Las variables continuas se expresaron como mediana (rango intercuartílico) y las variables categóricas como casos (porcentaje). Se consideró que un paciente había estado expuesto a un fármaco si había recibido esta droga durante un tiempo no inferior un mes.

Se realizó un análisis univariado para la selección metódica de aquellas variables susceptibles de entrar en el modelo mayor de regresión logística. Para ello, se realizaron regresiones logísticas simples con cada variable independiente. Posteriormente se construyó un modelo de regresión logística donde la variable primaria del estudio fue incluida como variable dependiente y como covariables se incluyeron todas aquellas que en el análisis univariado habían demostrado una relación con la variable primaria con un nivel de significación inferior a 0.25. Se procedió a la eliminación una a una de aquellas variables menos significativas (procedimiento de selección metódica hacia atrás), empezando por la variable con la p más alta, hasta obtener un modelo en el que las variables tuvieron un valor de $p \leq 0,15$.

Se comprobó que las variables continuas seguían una escala lineal en el *logit* mediante la prueba de Box Tidwell. Se valoró la presencia de posibles interacciones y la existencia de factores de confusión, obteniéndose por último el modelo final. Como prueba diagnóstica de casos extremos se utilizó la distancia de Cook. El estadístico de Hosmer-Lemeshow, basado en los percentiles, se empleó para valorar la bondad de ajuste.

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el paquete estadístico SPSS 15 (SPSS software, Chicago, Illinois, EEUU).

V. RESULTADOS

1. Descripción general de la muestra

De los 270 pacientes incluidos inicialmente en el estudio, 12 fueron excluidos por no poder disponer de información precisa sobre alguna de las variables requeridas para el análisis. Por lo que el tamaño final de la muestra analizada fue de 258 pacientes

2. Características epidemiológicas y clínicas de la población

Las características epidemiológicas y clínicas de los 258 pacientes incluidos se resumen en la tabla 6. De ellos, la mayoría fueron varones (66,7%) y adquirieron la infección por el VIH por vía heterosexual (78,7%).

Tabla 6: Características epidemiológicas y clínicas de la población a estudio

VARIABLES DEMOGRÁFICAS	
Sexo, nº varones (%)	172 (66,7)
Edad (años), media (DE)	43,1 (10,2)
Práctica de riesgo, nº (%)	
ADVP	8 (3,1)
Heterosexual	203 (78,7)
Homosexual	31 (12,0)
Otros	4 (1,6)
Desconocido	12 (4,6)
VARIABLES CLÍNICAS	
IMC (m/Kg ²), media (DE)	24,3 (3,5)
Consumo de alcohol (g/día), nº (%)	
< 50	198 (6,7)
≥ 50	60 (23,3)
nº: número de pacientes %: porcentaje DE: desviación estándar ADVP: adicción a drogas por vía parenteral IMC: índice de masa corporal	

3. Características relacionadas con la infección por el VIH

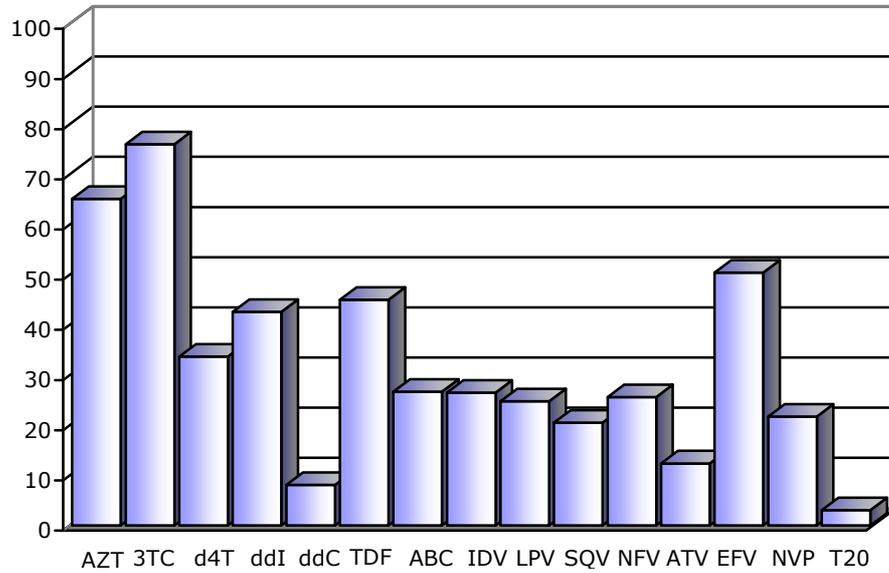
Las principales características relacionadas con la infección por el VIH se muestran en la tabla 7. El 85% de los pacientes tomaba TARGA, el 89% de los cuales tuvo un recuento de linfocitos CD4 mayor de 69% una carga viral indetectable. El tiempo medio desde el diagnóstico de infección por el VIH en los 180 pacientes en los que este dato pudo determinarse fue de 8,4 años.

Tabla 7: Características relacionadas con la infección por el VIH

VARIABLES RELACIONADAS CON INFECCIÓN POR EL VIH	
TARGA, n° (%)	220 (85,3)
Carga viral VIH indetectable, n° (%)	155 (60,1)
CD4 \geq 200 células/mm ³ , n° (%)	230 (89,1)
Categoría C de los CDC, n° (%)	65 (25,2)
Tiempo de infección por el VIH (años), media (DE)	18,1 (13,3)
Tiempo de TAR (años), media (DE)	8,4 (5,1)
TARGA: TAR de gran actividad n°: número de pacientes %: porcentaje CD4: Linfocitos CD4 DE: desviación estándar	

En el gráfico 1 podemos observar el porcentaje de pacientes en tratamiento que ha recibido cada uno de los diferentes fármacos antirretrovirales.

Gráfico 1: Distribución de fármacos antirretrovirales



3. Determinación de fibrosis hepática y sus posibles causas

Un total de 29 pacientes (11,2%) presentaron criterios elastográficos de FHOI. En todos ellos la determinación de ADN VHB, ARN VHC negativos, alfa-1-antitripsina, autoanticuerpos, ceruloplasmina, ferritina, hierro y transferrina fueron negativos o sus niveles estuvieron situados dentro del rango de la normalidad. En 13 pacientes (44,8%) se realizó una biopsia hepática. Todas las biopsias fueron clasificadas según el sistema de Scheuer [67]. En la tabla 8 se muestran los resultados de las 13 biopsias junto con la determinación de elastometría hepática.

Tabla 8: Clasificación de biopsias hepáticas según el sistema de Scheuer y determinación de elastometría hepática

PACIENTES	F	ESTEATOSIS	HIALINA MALLORY	kPa
1	2	No	No	8,5
2	2	Macro y microvacuolar	No	8,9
3	0	No	No	10,1
4	0	No	No	10,2
5	2	No	No	10,3
6	2	Macro y microvacuolar	Sí	10,4
7	1	No	No	11,6
8	2	No	No	12,2
9	2	No	Sí	14,5
10	2	Macro y microvacuolar	No	17,0
11	3	No	Sí	25,1
12	4	No	No	25,7
13	4	Leve	No	26,0

F: Gradación de la fibrosis
kPa: Kilopascales

4. Análisis univariante

4.1. Análisis univariante de las variables epidemiológicas, clínicas y aquellas relacionadas con la infección por el VIH

Se realizó un análisis univariante teniendo en cuenta los pacientes que presentaron FHOI (29) y aquellos que no la presentaron (229), incluyendo variables epidemiológicas (tabla 9),

Fibrosis hepática de origen incierto en pacientes infectados por el VIH: prevalencia y factores asociados

clínicas (tabla 10) y variables relacionadas con la infección por el VIH (tabla 11). Se observaron diferencias significativas en cuanto al consumo de alcohol, recuento de células CD4 y tiempo de TAR expresado en semanas. Estas últimas junto a la edad y la categoría de los CDC presentaron un nivel de significación menor ó igual a 0,25, incluyéndose por lo tanto, inicialmente, en el análisis multivariado.

Tabla 9: Análisis univariante de variables epidemiológicas

VARIABLES DEMOGRÁFICAS	FIBROSIS HEPÁTICA		P
	NO	SÍ	
Sexo, n° (%)			
Hombre	150 (87,2)	22 (12,8)	0,265
Mujer	79 (91,9)	7 (8,1)	
Edad, n° (%)			
< 40 años	92 (92,9)	7 (7,1)	0,094
≥ 40 años	137 (86,2)	22 (13,8)	
Práctica de riesgo, n° (%)			
Sexual	210 (89,7)	24 (10,3)	0,369
Otros	15 (78,9)	4 (21,1)	
n°: número de pacientes %: porcentaje			

Tabla 10: Análisis univariante de variables clínicas

VARIABLES CLÍNICAS	FIBROSIS HEPÁTICA		P
	NO	SÍ	
IMC, nº (%)			
< 30 m/Kg ²	216 (89,3)	26 (10,7)	0,402
≥ 30 m/Kg ²	13 (81,3)	3 (18,8)	
Consumo de alcohol, nº (%)			
< 50 g/día	186 (93,9)	12 (6,1)	0,000
≥ 50 g/día	43 (71,7)	17 (28,3)	
nº: número de pacientes %: porcentaje IMC: índice de masa corporal			

Tabla 11: Análisis univariante de las variables relacionadas con la infección por el VIH

VARIABLES RELACIONADAS CON INFECCIÓN POR EL VIH	FIBROSIS HEPÁTICA		P
	NO	SÍ	
TARGA, n° (%)			
Sí	194 (88,2)	26 (11,8)	0,589
No	35 (92,1)	3 (7,9)	
Carga viral VIH indetectable, n° (%)			
Sí	140 (90,3)	15 (9,7)	0,330
No	89 (86,4)	14 (13,6)	
Recuento de células CD4, n° (%)			
CD4 < 200 cél/mm ³	18 (64,3)	10 (35,7)	0,000
CD4 ≥ 200 cél/mm ³	211 (91,7)	19 (8,3)	
Categoría C de los CDC, n° (%)			
A-B	175 (90,7)	18 (9,3)	0,094
C	54 (83,1)	11 (16,9)	
Tiempo de TAR (semanas), media (DE)			
	832,6 (636,3)	1209,6 (614,6)	0,005
TARGA: TAR de gran actividad n°: número de pacientes %: porcentaje CD4: Linfocitos CD4 DE: desviación estándar			

4.1. Análisis univariante de de los diferentes fármacos antirretrovirales y del tiempo de exposición a cada uno de ellos

4.1.1. Análisis univariante de los diferentes fármacos antirretrovirales

Se realizó un análisis univariante entre los pacientes que presentaron $FH \geq 7,2$ kPa (29) y los que no (229), teniendo en cuenta cada uno de los fármacos antirretrovirales de manera individual ajustados por consumo de alcohol y recuento de células CD4.

En la tabla 12 se muestra el análisis univariante con el grupo de fármacos ITIAN.

Tabla 12: Análisis univariante de los inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleos(t)idos

ITIAN	FIBROSIS HEPÁTICA		P
	NO	SÍ	
ZIDOVUDINA, n° (%)			
Sí	145 (86,8)	22 (13,2)	0,173
No	84 (92,3)	7 (7,7)	
LAMIVUDINA, n° (%)			
Sí	171 (87,2)	25 (12,8)	0,121
No	58 (93,5)	4 (6,5)	
ESTAVUDINA, n° (%)			
Sí	71 (81,6)	16 (18,4)	0,032
No	158 (92,4)	13 (7,6)	
DIDANOSINA, n° (%)			
Sí	92 (83,6)	18 (16,4)	0.031
No	137 (92,6)	11 (7,4)	
ZALCITABINA, n° (%)			
Sí	16 (76,2)	5 (23,8)	0,029
No	213 (89,9)	24 (10,1)	
TENOFOVIR, n° (%)			
Sí	100 (85,5)	17 (14,7)	0,216
No	129 (91,5)	12 (8,5)	
ABACAVIR, n° (%)			
Sí	55 (78,6)	15 (21,4)	0,004
No	174 (92,6)	14 (7,4)	
ITIAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleos(t)idos n°: número de pacientes %: porcentaje			

Se detectaron diferencias significativas en cuanto al tratamiento con d4T, ddI, zalcitabina (ddC) y ABC (gráficos 1, 2, 3,

4) entre los pacientes con y sin FHOI. Zidovudina (AZT), lamivudina (3TC) y tenofovir (TDF) presentaron un nivel de significación inferior ó igual a 0,25, incluyéndose por tanto, inicialmente en el análisis multivariado.

Gráfico 1: Tratamiento con estavudina

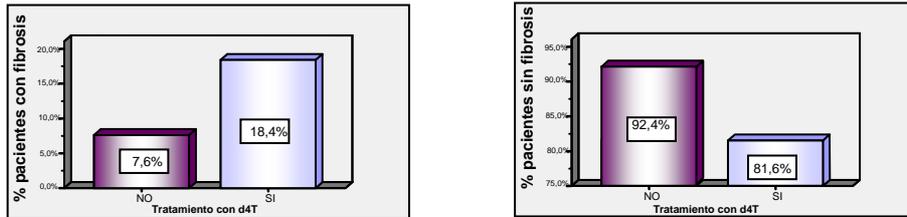


Gráfico 3: Tratamiento con didanosina

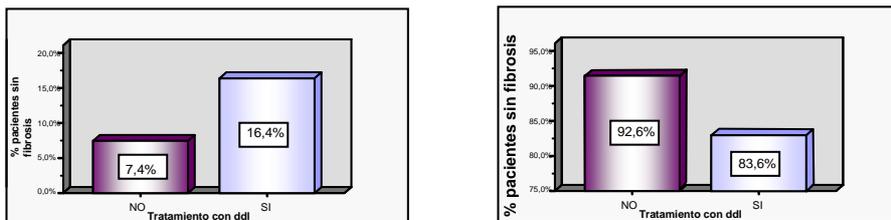
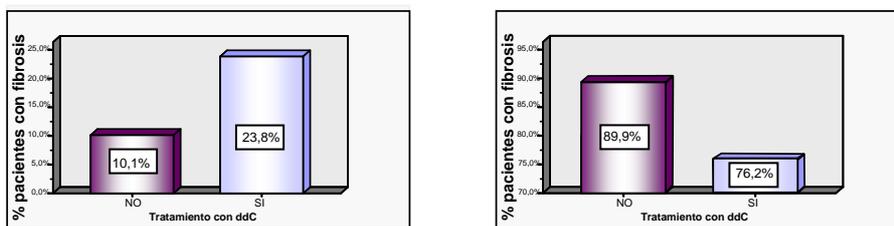
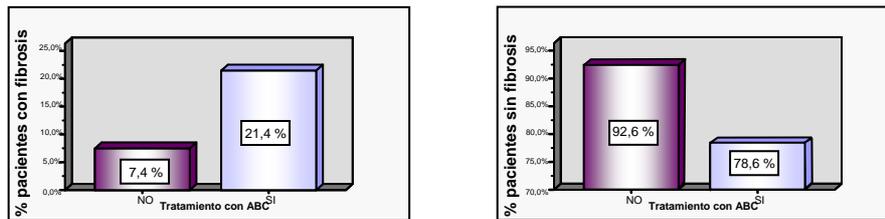


Gráfico 4: Tratamiento con zalcitabina



Fibrosis hepática de origen incierto en pacientes infectados por el VIH: prevalencia y factores asociados

Gráfico 5: Tratamiento con abacavir



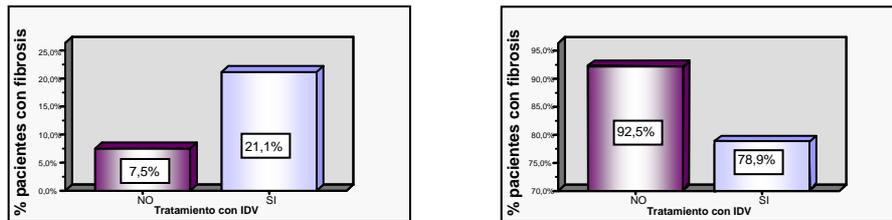
El análisis univariante realizado con inhibidores de la proteasa (IP) se muestra en la tabla 13.

Tabla 13: Análisis univariante de los inhibidores de la proteasa

INHIBIDORES DE LA PROTEASA	FIBROSIS HEPÁTICA		P
	NO	SÍ	
INDINAVIR, n° (%)			0,019
Sí	56 (78,9)	15 (21,1)	
No	173 (92,5)	14 (7,5)	
LOPINAVIR, n° (%)			0,172
Sí	51 (81,0)	12 (19,0)	
No	178 (91,3)	17 (8,7)	
SAQUINAVIR, n° (%)			0,322
Sí	45 (85,9)	8 (15,1)	
No	184 (89,8)	21 (10,2)	
NELFINAVIR, n° (%)			0,260
Sí	60 (90,9)	6 (9,1)	
No	169 (88)	23 (12)	
ATAZANAVIR, n° (%)			0,624
Sí	27 (84,4)	5 (15,6)	
No	202 (89,4)	24 (10,6)	
n°: número de pacientes %: porcentaje			

Se detectó significación estadística en relación al tratamiento con indinavir (IDV) (gráficos 6). Lopinavir (LPV) presentó un nivel de significación inferior ó igual a 0,25, por lo que se incluyó, inicialmente en el análisis multivariado.

Gráfico 6: Tratamiento con indinavir



En la tabla 14 se muestra el análisis univariante realizado con inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleósidos (ITINAN) e inhibidores de la fusión (IF).

Enfuvirtide (T20) presentó un nivel de significación inferior ó igual a 0,25, incluyéndose por tanto, inicialmente en el análisis multivariado. No se detectaron diferencias significativas entre los pacientes con y sin fibrosis significativa respecto al tratamiento con EFV, NVP y T20.

Tabla 14: Análisis univariante de los inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleós(t)idos e inhibidores de la fusión

ITINAN	FIBROSIS HEPÁTICA		P
	NO	SÍ	
EFAVIRENZ, n° (%)			
Sí	114 (87,7)	16 (12,3)	0,756
No	115 (89,8)	13 (10,2)	
NEVIRAPINA, n° (%)			
Sí	49 (87,5)	7 (12,5)	0,568
No	180 (89,1)	22 (10,9)	
INHIBIDORES DE LA FUSIÓN		FIBROSIS HEPÁTICA	P
ENFUVRTIDE, n° (%)			
Sí	4 (50,0)	4 (50,0)	0,070
No	225 (90,0)	25 (10,0)	
ITINAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleós(t)idos n°: número de pacientes %: porcentaje			

4.1.2. Análisis univariante del tiempo de exposición a los distintos fármacos antirretrovirales

Se realizó un análisis univariante entre los pacientes que presentaron FHOI (29) y los que no (229), teniendo en cuenta el tiempo de exposición en semanas a cada uno de los fármacos antirretrovirales ajustados por consumo de alcohol y recuento de células CD4+.

En la tabla 15 podemos observar el análisis univariante con el tiempo medio de exposición a ITIAN.

Tabla 15: Análisis univariante del tiempo medio de exposición a los inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleós(t)idos

ITIAN	FIBROSIS HEPÁTICA	TIEMPO EXPOSICIÓN (semanas), media (DE)	P
ZIDOVUDINA	Sí	175,9 (156,)	0,082
	No	148,3 (169,5)	
LAMIVUDINA	Sí	235,8 (179,8)	0,123
	No	191,4 (175,4)	
ESTAVUDINA	Sí	109,0 (139,3)	0,229
	No	73,9 (127,2)	
DIDANOSINA	Sí	154,2 (174,6)	0,000
	No	74,4 (120,5)	
ZALCITABINA	Sí	12,5 (30,0)	0,172
	No	6,1 (26,2)	
TENOFOVIR	Sí	67,0 (85,1)	0,238
	No	47,9 (75,6)	
ABACAVIR	Sí	75,8 (105,8)	0,008
	No	34,2 (78,6)	
ITIAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleós(t)idos DE: Desviación estándar			

El tiempo de exposición a AZT, 3TC, d4T, ddC y TDF fue mayor en el grupo de pacientes con FHOI respecto a aquellos pacientes sin FHOI con un nivel de significación inferior ó igual a

0,25, incluyéndose por tanto, inicialmente en el análisis multivariado.

Se detectaron diferencias significativas en cuanto al tiempo de tratamiento con ddI y ABC entre los dos grupos.

El análisis univariante realizado con el tiempo de exposición a IP se muestra en la tabla 16.

El tiempo de exposición a IDV fue mayor en el grupo de pacientes con FHOI respecto a aquellos pacientes sin FHOI con un nivel de significación inferior ó igual a 0,25, incluyéndose por tanto, inicialmente en el análisis multivariado. No se objetivaron diferencias significativas respecto al tiempo de exposición a los diferentes IP entre los pacientes con y sin FHOI.

Tabla 16: Análisis univariante del tiempo medio de exposición a los inhibidores de la proteasa

IP	FIBROSIS HEPÁTICA	TIEMPO EXPOSICIÓN (semanas), media (DE)	P
INDINAVIR	Sí	73,9 (110,4)	0,186
	No	39,7 (98,4)	
LOPINAVIR	Sí	42 (66,7)	0,402
	No	24,0 (58,9)	
SAQUINAVIR	Sí	33,7 (82,2)	0,297
	No	22,2 (63,8)	
NELFINAVIR	Sí	23,8 (51,6)	0,434
	No	40,7 (88,2)	
ATAZANAVIR	Sí	19,7 (52,5)	0,542
	No	12,4 (39,1)	
IP: Inhibidores de la proteasa DE: Desviación estándar			

En la tabla 17 podemos observar el análisis univariante realizado con el tiempo de exposición a ITINAN. Tanto el tiempo de exposición a EFV como a NVP presentaron un nivel de significación inferior ó igual a 0,25, incluyéndose por tanto, inicialmente en el análisis multivariado. No se detectó significación estadística en cuanto al tiempo de tratamiento con ITINAN entre el grupo de pacientes con FHOI y aquellos sin FHOI.

Tabla 17: Análisis univariante del tiempo medio de exposición a los inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleós(t)idos

ITINAN	FIBROSIS HEPÁTICA	TIEMPO EXPOSICIÓN (semanas), media (DE)	P
EFAVIRENZ	Sí	71,8 (108,6)	0,120
	No	98,7 (125,2)	
NEVIRAPINA	Sí	58,8 (137,2)	0,183
	No	40,7 (100,2)	
ITINAN: inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleós(t)idos DE: Desviación estándar			

5. Análisis multivariante

Con el objetivo de definir los factores asociados a la presencia de FHOI se incluyeron aquellas variables con un nivel de significación menor ó igual a 0,25 en el análisis univariante en dos modelos de regresión logística; uno que incluyó los distintos fármacos antirretrovirales sin tener en cuenta el tiempo de exposición a los mismos (tabla 18) y un segundo modelo que incluyó el tiempo de exposición a los diferentes fármacos antirretrovirales (tabla 19). Se decidió no realizar un único modelo para evitar el introducir una misma variable dos veces en un mismo modelo.

5.1. Análisis multivariante realizado con fármacos antirretrovirales

Las variables edad y categoría de los CDC, tratamiento con AZT, 3TC, d4T, ddC, tdf, IDV, LPV y T20 fueron eliminadas del modelo por carecer de significación estadística. Se valoraron las posibles interacciones; siendo no significativas. Ningún paciente presentó una distancia de Cook superior a uno. La variable AZT fue identificado como posible factor de confusión dado que su eliminación del modelo afectaba al coeficiente del resto de variables en un porcentaje superior al 15-20%. Por tanto, aunque no presenta significación estadística, debe permanecer en el modelo de regresión logística.

Tabla 18: Análisis multivariante realizado con fármacos antirretrovirales

VARIABLE	OR	IC 95%	P
ABACAVIR	3,9777	1,4034 – 11,2735	0,009
CD4+ < 200 cél/mm³	6,3714	2,0251 – 20,0468	0,002
TIEMPO DE TAR	1,0016	1,0005 – 1,0026	0,005
CONSUMO ALCOHOL ≥ 50 g/día	6,2825	2,4100 – 16,3774	0,000
ZIDOVUDINA*	0,2753	0,0565 – 1,3401	0,110
Test de la razón de verosimilitud = 47,073; GL = 5; p < 0,000 Estadístico de Hosmer-Lemeshow C = 9,726; p = 0,285; GL = 8 Área bajo la curva ROC = 0,824 (IC95% = 0,728 a 0,919)			
OR: Odds Ratio IC: Intervalo de confianza CD4+: Linfocitos CD4+			

* Zidovudina actúa como factor de confusión por lo que debe permanecer en el modelo porque su eliminación del mismo afecta al

coeficiente del resto de variables en un porcentaje superior al 15 - 20%.

5.2. Análisis multivariante realizado con tiempo de exposición a fármacos antirretrovirales

Las variables edad y categoría de los CDC y tiempo de exposición a IDV fueron eliminadas del modelo por carecer de significación estadística. Se valoraron las posibles interacciones; siendo no significativas. Ningún paciente presentó una distancia de Cook superior a uno.

Tabla 19: Análisis multivariante realizado con tiempo de exposición a fármacos antirretrovirales

VARIABLE	OR	IC 95%	P
TIEMPO DE EXPOSICIÓN A ABC	1,0046	1,0003 - 1,0091	0,037
TIEMPO DE EXPOSICIÓN A DDI	1,0056	1,0026 - 1,0090	0,000
CD4+ < 200 cél/mm³	5,0906	1,7292 - 14,9861	0,003
CONSUMO ALCOHOL ≥ 50 g/día	7,8610	2,9422 - 21,0075	0,000
Test de la razón de verosimilitud = 46,425; GL = 4; p < 0,000 Estadístico de Hosmer-Lemeshow C = 5,577; p = 0,472; GL = 6 Área bajo la curva ROC = 0,830; IC95% = 0,744 a 0,917			
OR: Odds Ratio IC: Intervalo de confianza CD4+: Linfocitos CD4+ ABC: Abacavir ddI: Didanosina			

5.3. Análisis multivariante realizado con fármacos antirretrovirales categorizados por exposición reciente ó previa

Para evidenciar si la presencia de FHOI se asoció al consumo reciente de ABC, realizamos nuevamente el análisis multivariado (tabla 20) incluyendo variables dummy que identificaran el uso reciente (uso actual o durante los 6 meses previos a la determinación de elastometría hepática) y uso previo (tratamiento suspendido 6 meses antes de la determinación de elastometría hepática).

Tabla 20: Análisis multivariante realizado con fármacos antirretrovirales categorizados por exposición reciente ó previa

VARIABLE	OR	IC 95%	P
ABACAVIR			
Tratamiento reciente*	4,8549	1,5192 - 15,5156	0,004
Tratamiento previo**	2,4961	0,4969 - 12,5362	0,258
No tratamiento			
TIEMPO DE TAR	1,0017	1,0004- 1,0027	0,015
CD4+ < 200 cél/mm³	6,3277	1,9969 - 20,0517	0,005
CONSUMO ALCOHOL ≥ 50 g/día	6,9171	2,5482 - 18,7749	0,000
ZIDOVUDINA	0,2424	0,0478 - 1,2308	0,087
Test de la razón de verosimilitud = 36,615; GL = 4; p < 0,000 Estadístico de Hosmer-Lemeshow C = 4,487; p = 0,356; GL = 4 Área bajo la curva ROC = 0,830 (IC95% = 0,744 a 0,917)			
OR: Odds Ratio IC: Intervalo de confianza * Tratamiento en el momento de la intervención ó 6 meses previos a la misma ** Tratamiento suspendido 6 meses antes del momento de la intervención CD4+: Linfocitos CD4+			

* Zidovudina actúa como factor de confusión por lo que debe permanecer en el modelo porque su eliminación del mismo afecta al coeficiente del resto de variables en un porcentaje superior al 15 - 20%.

El consumo de alcohol superior a 50 g/día, la presencia de un recuento de células CD4+ inferior a 200 cél/mm³, el tiempo de TAR, la exposición reciente a ABC así como la duración del tratamiento con el mismo y el tiempo de exposición a ddI se asociaron de manera significativa a la presencia de FHOI.

VI. DISCUSIÓN

La FHOI es una patología cuya prevalencia en la población general es menor del 0,01% [69-71]. Varios estudios han puesto de manifiesto que esta entidad se presenta con mayor frecuencia en pacientes infectados por el VIH [5, 6]. En nuestro estudio la prevalencia de FHOI en pacientes infectados por el VIH es del 11,1%. Estos resultados concuerdan con los observados en anteriores estudios realizados con criterios elastográficos similares a los empleados en nuestro estudio [5, 6, 137]. En nuestro estudio los factores asociados a la presencia de FHOI fueron el consumo diario de alcohol superior a 50 g, la inmunodepresión, el tiempo de TAR y la exposición a ABC y ddI.

El grado de inmunodepresión se ha relacionado con la progresión de la FH en pacientes infectados por el VIH con hepatopatía crónica por VHC [22, 95]. De tal manera que, los pacientes coinfectados por el VIH y el VHC con un recuento bajo de células CD4+ tienen una evolución más rápida de su enfermedad hepática [137]. Este hecho podría deberse al incremento de la carga viral de VHC que se produce en pacientes infectados por el VIH con niveles plasmáticos bajos de células CD4+ [138]. Por otro lado, esta asociación observada entre la depleción de células CD4+ y la progresión de la FH podría explicarse por la presencia de hiperesplenismo en pacientes coinfectados por VIH y VHC con

hepatopatía crónica en situación avanzada [137]. En el presente estudio, hemos encontrado una asociación significativa entre la presencia de un recuento de células CD4+ < 200 cél/mm³ y el desarrollo de FHOI en pacientes infectados por el VIH. Este factor no ha sido asociado con la presencia de FHOI en otros estudios.

Es sabido que el grado de inmunodepresión favorece el desarrollo de infecciones oportunistas en pacientes infectados por el VIH [139], las cuales podrían contribuir a la aparición de algún grado de lesión hepática, sin embargo, este hecho queda razonablemente descartado en nuestro estudio, dado que se investigó la posible relación entre la presencia de eventos oportunistas y la existencia de FHOI, no encontrándose asociación entre ambos.

La asociación observada entre el grado de inmunodepresión y el desarrollo de FHOI podría ser secundaria al hecho de que los pacientes con mayor tiempo de infección tienen un menor recuento de células CD4 [140, 141], de manera que, el grado de inmunodepresión podría ser un marcador indirecto del tiempo de infección por el VIH. Esta última variable ha sido recogida en un número reducido de pacientes en nuestro estudio, por lo que no podemos determinar si ésta asociación detectada es realmente debida la presencia de un bajo recuento de CD4 o a un efecto directo del VIH sobre el tejido hepático. Se ha demostrado que la infección por el VIH acelera la progresión de la enfermedad hepática

en pacientes con hepatopatía crónica por VHC [27], sin embargo, no se ha descrito previamente la asociación entre FHOI y tiempo de infección por el VIH. Asimismo, los pacientes con menor recuento de CD4 al tener un mayor tiempo de su evolución por el VIH, han recibido TAR durante un período más prolongado, de manera que, la cifra de CD4 podría actuar como factor de confusión subrogado al tiempo de TAR. No obstante, el tiempo de TAR se asoció de manera independiente a la presencia de FHOI, sin mostrar ninguna interacción con las cifras de CD4.

El TARGA tiene un beneficio incuestionable para los pacientes con infección por el VIH, ya que consigue suprimir la replicación viral y evitar o revertir el deterioro inmunológico de los pacientes. Sin embargo la hepatotoxicidad es uno de los efectos adversos más frecuentes asociado al uso de fármacos antirretrovirales [48]. Entre los factores que aumentan el riesgo de hepatotoxicidad a fármacos antirretrovirales se encuentran la coinfección por virus hepatopos, alcohol,... Las cifras basales de linfocitos CD4 han sido identificadas como factores relacionados con el desarrollo de hepatotoxicidad. El ejemplo mas conocido es la relación encontrada entre de la hepatotoxicidad por nevirapina y cifras altas de CD4, de tal modo que se desaconseja su uso en mujeres con un recuento de linfocitos CD4+ superior a 250 céls/mm³ y en hombres con cifras de linfocitos CD4+ mayor de 400 cél/ mm³ en varones [142]. Sin embargo este modelo no es aplicable a otros fármacos

antirretrovirales ya que en ya que este tipo de hepatotoxicidad por nevirapina es producida por un mecanismo de hipersensibilidad intrínseca a la misma y la relación entre el mayor recuento de linfocitos CD4 y el desarrollo de hepatotoxicidad no ha sido encontrada con otros fármacos antirretrovirales. En cambio algunos estudios han encontrado una relación inversa. Law et al. en un estudio de cohortes que incluyó a 692 pacientes infectados por el VIH en TAR objetivó cifras de CD4 inferiores a 250 cels/mm³ se asociaron de manera significativa a la aparición de hepatotoxicidad [143]. Dado que en nuestro estudio hemos encontrado relación entre la presencia de FHOI y determinados fármacos antirretrovirales, cabe especular que la existencia de inmunodepresión pudiera haber incrementado el riesgo de hepatotoxicidad por éstos.

El consumo de alcohol es más común en pacientes con infección por el VIH que en la población general [144] y es bien sabido que un consumo excesivo de alcohol es causa de hepatopatía crónica y cirrosis hepática [75-77]. No resulta por tanto sorprendente que en nuestro estudio, un consumo diario > 50 g se relacione con la presencia de FHOI en pacientes con infección por el VIH. La asociación del consumo de alcohol con la presencia FHOI ha sido puesta de manifiesto en otros estudios realizados en pacientes con infección por el VIH, en los que, el consumo de alcohol fue la causa principal de FHOI [5, 6].

En nuestro estudio el tiempo de exposición a ddI resultó un factor predictor de FHOI. La probabilidad de asociación de FHOI aumentó conforme lo hizo el tiempo de exposición a didanosina. Estos resultados concuerdan con los del estudio realizado por Maida y cols en el que el tiempo de exposición a ddI fue el único factor predictor de FHOI (OR: 1.04, IC: 1.004-1.088; $p = 0.03$) Así, el grupo de pacientes con FH había recibido ddI durante un tiempo medio de 47 meses mientras que el grupo control había estado expuesto a esta droga durante una media de 25 meses ($p = 0.009$) [68]. De la misma manera, se ha objetivado en un estudio reciente realizado por los mismos autores, que la presencia de cirrosis hepática en pacientes infectados por el VIH, se asocia de manera significativa a la exposición prolongada a ddI [137].

Didanosina es un análogo de los nucleósidos sintético que tras sufrir una fosforilación en el interior de la célula, da lugar a su metabolito activo. Esta forma trifosfato inhibe la actividad de la transcriptasa inversa del VIH compitiendo con su sustrato natural. Este ITIAN inhibe también las ADN polimerasas gamma responsable de la síntesis de ADN mitocondrial [145]. Entre los efectos secundarios más frecuentes asociados a la administración de ddI destacan las alteraciones gastrointestinales, pancreatitis y neuropatía periférica. Asimismo se ha descrito el desarrollo de hepatotoxicidad [146], esteatosis hepática hiperlactatemia y acidosis láctica en las que el daño hepático es una parte

predominante del síndrome [68]. Estos efectos parecen estar relacionados con el desarrollo de toxicidad mitocondrial [147-149]. Se ha objetivado que ddI induce una depleción de ADN mitocondrial in vitro en los linfocitos T lo que provoca importantes cambios metabólicos y en el ADN mitocondrial [150-152]. Además este efecto parece ser dosis y tiempo dependiente [153]. Estos resultados se han corroborado en otros estudios in vitro con diferentes tipos celulares humanos como las células de túbulo renal proximal [147, 154]. Asimismo, se ha demostrado en estudios en vivo que la exposición a ddI está relacionada con la depleción de ADN mitocondrial en tejidos como la grasa subcutánea [148]. De manera que, se puede especular que el desarrollo de toxicidad mitocondrial podría ser el mecanismo responsable del desarrollo de fibrosis FHOI asociado a la exposición a ddI en pacientes con infección por el VIH. Está descrito que el tratamiento concomitante con ddI y d4T incrementa el riesgo de toxicidad mitocondrial [17, 155].

En nuestro estudio hemos encontrado asociación entre el uso de abacavir y la presencia de FHOI. Esta relación no ha sido puesta de manifiesto en ningún estudio hasta la fecha y resulta inesperada e inexplicable. Resulta llamativo que la asociación de ABC con FHOI se haya encontrado tanto en el modelo en el que se relacionó la FHOI con el uso o no uso de ABC, como en el modelo en el que se relacionó la presencia de FHOI con el tiempo de exposición al

fármaco. También resulta sorprendente que en el modelo en el que se evaluó la relación del uso reciente o previo de ABC con FHOI solo resultara significativa la asociación con el uso reciente del fármaco. Ello obliga a especular a cerca de un mecanismo de desarrollo de la FHOI que pudiera ser reversible tras la retirada del fármaco. Recientemente, se ha objetivado en un estudio in vitro que ABC ó carbovir, su metabolito activo, podría estar relacionado con el deterioro significativo de la proliferación celular y un incremento de la producción de lactato y lípidos in vitro, sin detectarse el desarrollo de depleción de ADN mitocondrial asociado a la presencia de este fármaco [156]. Desconocemos si estos efectos observados in vitro podrían estar relacionados con el desarrollo de FHOI in vivo. Serían necesarios nuevos estudios para confirmar la relación de ABC con FHOI y determinar el posible mecanismo por el cual ABC es capaz de producir daño hepático.

Según los resultados de nuestro estudio, el incremento de riesgo relacionado con la exposición a ABC es evidente mientras los pacientes están recibiendo esta droga y parece disminuir tras su suspensión. De la misma manera, se ha objetivado en un estudio que evaluó el riesgo de infarto de miocardio asociado a ITIAN, que los pacientes con exposición reciente a ABC tenían mayor riesgo de desarrollo de infarto de miocardio pero que este riesgo se reducía pocos meses después de la retirada del fármaco [157]. En nuestro estudio, no hemos observado que los pacientes en tratamiento con

ABC tuvieron un mayor consumo de alcohol ni menor recuento de células CD4. Además, dado que el efecto deletéreo asociado a la exposición a ABC desaparece tras la retirada del fármaco, parece improbable que el aumento de riesgo de desarrollo de FH sea debido a otros factores.

Así, podemos decir que, aunque el beneficio del TARGA está claramente demostrado, determinados fármacos antirretrovirales como ABC o ddI podrían aumentar el riesgo de aparición de fibrosis hepática en pacientes con infección por el VIH. Se podría especular con la posibilidad de que este hecho tuviera aún mayor importancia en aquellos pacientes que están expuestos a otros factores de riesgo para el desarrollo de daño hepático como la co-infección por VHC ó VHB, consumo de alcohol, esteatohepatitis o enfermedades autoinmunes en los que sería conveniente evitar posibles fármacos hepatotóxicos que pudieran provocar una aceleración de la progresión de su enfermedad. De todos modos, sería necesario confirmar estos resultados en ulteriores estudios.

VII. CONCLUSIONES

Del desarrollo de este estudio y de la obtención de los resultados anteriormente expuestos pueden darse las siguientes respuestas a la hipótesis y objetivos inicialmente planteados

1. La fibrosis hepática de origen incierto tiene una prevalencia 11,1% en pacientes infectados por el VIH.
2. El consumo excesivo de alcohol se favorece el desarrollo de fibrosis hepática.
3. La presencia de un recuento de células CD4+ < 200 cél/mm se asoció de manera significativa a la presencia de fibrosis hepática de origen incierto.
4. El tiempo de tratamiento antirretroviral se relacionó de manera significativa con el desarrollo de fibrosis hepática de origen incierto.
5. Nuestro estudio sugiere que el tratamiento reciente con abacavir favorece la aparición de fibrosis hepática en pacientes con infección por el VIH.
6. El tiempo de exposición a didanosina fue un factor de riesgo para el desarrollo de fibrosis hepática en pacientes con infección por el VIH.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. <http://www.who.int/hiv/strategic/en/eurohiv67.pdf>. In. [cited.
2. Hammer S M, S.K.E., Hughes M D, Grimes J M, Demeter L M, Currier J S, Eron, J J Jr, Feinberg J E, Balfour H H Jr, Deyton L R, Chodakewitz J A, Fischl M A, *A controlled trial of two nucleoside analogues plus indinavir in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cell counts of 200 per cubic millimeter or less. AIDS Clinical Trials Group 320 Study Team* N Engl J Med, 1997. **337**(11): p. 725-33.
3. Palella FJ Jr, D., KM, Moorman, AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, Aschman DJ, Holmberg SD, *Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators.* N Engl J Med, 1998. **338**(13): p. 853-60.
4. *Survival after introduction of HAART in people with known duration of HIV-1 infection. The CASCADE Collaboration. Concerted Action on SeroConversion to AIDS and Death in Europe.* Lancet, 2000. **355**(9210): p. 1158-9.
5. Barreiro P, M.-C.L., Maida I, Labarga P, Castellares C, Ruíz-Sancho A, González-Lahoz J and Soriano V. , *Liver fibrosis in HIV-infected patients without chronic viral hepatitis – prevalence, clinical characteristics and potential causes.*, CROI, Editor. 2007: Los Ángeles.
6. Merchante N, R.E., Mira JA, Vergara S, García-García JA, del Valle J, Macías J, Gómez-Mateos J, Lozano F, Pineda JA, *Low prevalence of moderate-severe liver fibrosis assessed by transient hepatic elastography in HIV-infected patients without HBV or HCV coinfection.* , CROI, Editor. 2007: Los Ángeles
7. Bica I, M.B., Dhar R, Stone D, McGowan K, Scheib R, Snyderman DR, , *Increasing mortality due to end-stage liver disease in patients with human immunodeficiency virus infection.* Clin Infect Dis, 2001. **32**(3): p. 492-7.
8. Rosenthal E, P.M., Pradier C, Perronne C, Salmon-Ceron D, Geffray L. Myers RP, Morlat P, Pialoux G, Pol S, Cacoub P, *Mortality due to hepatitis C-related liver disease in HIV-infected patients in France (Mortavic 2001 study).* Aids, 2003. **17**(12): p. 1803-9.

9. Martin-Carbonero L, V.E., et al, *Increasing impact of chronic viral hepatitis on hospital admission and mortality among HIVinfected patients*. AIDS Res Hum Retroviruses, 2001. **17**: p. 1467-1471.
10. Vergara S, M.J., Rivero A, Gutierrez-Valencia A, Gonzalez-Serrano M, Merino D, Rios MJ, Garcia-Garcia JA, Camacho A, Lopez-Cortes L, Ruiz J, de la Torre J, Viciano P, Pineda JA, *The use of transient elastometry for assessing liver fibrosis in patients with HIV and hepatitis C virus coinfection*. Clin Infect Dis, 2007. **45**(8): p. 969-74.
11. Konopnicki D, M.A., de Wit S, Antunes F, Ledergerber B, Katlama C, Zilmer K, Vella S, Kirk O, Lundgren JD, *Hepatitis B and HIV: prevalence, AIDS progression, response to highly active antiretroviral therapy and increased mortality in the EuroSIDA cohort*. Aids, 2005. **19**(6): p. 593-601.
12. Backus LI, P.B., Boothroyd DB, Mole LA, Burgess J, Rigsby MO, Chang SW, *Effects of hepatitis C virus coinfection on survival in veterans with HIV treated with highly active antiretroviral therapy*. J Acquir Immune Defic Syndr, 2005. **39**(5): p. 613-9.
13. Gonzalez-Garcia JJ, M.B., Hernandez S, Pacheco R, Diz S, Garcia P, Esteban H, Arribas JR, Quereda C, Rubio R, Diez J, Moreno S, Vazquez-Rodriguez JJ, *[Prevalences of hepatitis virus coinfection and indications for chronic hepatitis C virus treatment and liver transplantation in Spanish HIV-infected patients. The GESIDA 29/02 and FIPSE 12185/01 Multicenter Study.]* Enferm Infecc Microbiol Clin, 2005. **23**(6): p. 340-8.
14. Macías J, C.V., Merchante N, et al., *Effect of antiretroviral drugs on liver fibrosis in HIV-infected patients with chronic hepatitis C: harmful impact of nevirapine*. AIDS 2004. **18**: p. 767Y774.
15. Mohammed SS, A.E., Salit IE, Avand G, Sherman M, Guindi M, Heathcote JE, Allard JP, *HIV-Positive Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease Have a Lower Body Mass Index and Are More Physically Active Than HIV-Negative Patients*. J Acquir Immune Defic Syndr, 2007. **45**: p. 432–438.
16. Regazzi M, M.R., Villani P, et al, *Clinical pharmacokinetics of nelfinavir and its metabolite M8 in human immunodeficiency virus (HIV)-positive and HIV-hepatitis C virus-coinfected patients*. Antimicrob Agents Chemother, 2005. **49**: p. 643-9.
17. Iribarren JA, L.P., Rubio R, et al. Grupo de Estudio de Sida; Consejo Asesor Clinico del Plan Nacional sobre el Sida del

- Ministerio de Sanidad y Consumo *Recomendaciones de GESIDA/Plan Nacional sobre el Sida respecto al tratamiento antirretroviral en pacientes adultos infectados por el VIH (octubre 2004)*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2004. **22**: p. 564–642.
18. WM, L., *Drug-induced hepatotoxicity*. *N Engl J Med*, 2003. **349**: p. 474-85.
 19. Demeter L, J.H., Mukherjee L, Morse G, DiFrancesco R, Klingman K, Bachelier L, DiCenzo R, Rinehart A, Albrecht M and the A5146 Study, *A prospective, randomized, controlled, open-label trial evaluating the effect of therapeutic drug monitoring and protease inhibitor dose escalation on viral load responses in antiretroviral-experienced, HIV infected patients with a normalized inhibitory quotient*, in *15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*. 2007: Boston.
 20. Sulkowski MS, M.E., Seeff LB, Thomas DL. , *Hepatitis C virus infection as an opportunistic disease in persons infected with human immunodeficiency virus*. *Clin Infect Dis*, 2000. **30(suppl 1)**: p. S77-S84.
 21. Soriano V, S.M., Bergin C, et al, *Care of patients with chronic hepatitis C and HIV co-infection: recommendations from the HIV-HCV International Panel*. *AIDS*, 2002. **16**: p. 813-828.
 22. Benhamou Y, B.M., Di Martino V, et al., *Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfecting patients*. *Hepatology*, 1999. **30**: p. 1054-8.
 23. Graham CS, B.L., Yu E, et al, *Influence of human immunodeficiency virus infection on the course of hepatitis C virus infection: a meta-analysis*. *Clin Infect Dis*, 2001. **33**(562-9).
 24. Pineda JA, R.-G.M., Díaz-García F, et al, *HIV coinfection shortens the survival of patients with hepatitis C virus-related decompensated cirrhosis*. *Hepatology*, 2005. **41**: p. 779-89.
 25. Macías J, M.I., Fernández-Rivera FJ, et al, *Mortality due to liver failure and impact on survival of hepatitis virus infections in HIV-infected patients on potent antiretroviral therapy*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2002. **21**: p. 775-81.
 26. Martínez-Sierra C, A.A., Díaz F, et al, *Progression of chronic hepatitis C to liver fibrosis and cirrhosis in patients coinfecting with hepatitis C virus and human immunodeficiency virus*. *Clinical Infect Dis*, 2003. **36**: p. 491-8.
 27. Martín-Carbonero L, B.Y., Puoti M, et al, *Incidence and predictors of severe liver fibrosis in human immunodeficiency*

- virus-infected patients with chronic hepatitis C: a European collaborative study*. Clin Infect Dis, 2004. **38**: p. 128-33.
28. Salmon-Ceron D, L.C., Morlat P, et al, *Liver disease as a major cause of death among HIV infected patients: Role of hepatitis C and B viruses and alcohol*. J Hepatol, 2005. **42**: p. 799-805.
 29. McGovern B, D.J., Taylor LE, Gandhi RT, Christopoulos KA, Chapman S, Schwartzapfel B, Rindler E, Fiorino AM, Zaman MT, Sax PE, Graeme-Cook F, Hibberd PE *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**: p. 365-72.
 30. Tural C, F.D., Tor J, et al, *Time on antiretroviral therapy is a protective factor for liver fibrosis in HIV and hepatitis C virus (HCV) co-infected patients*. J Viral Hep, 2003. **10**: p. 118-25.
 31. Backus LI, P.B., Boothroyd DB, et al, *Effects of hepatitis C virus coinfection on survival in veterans with HIV treated with highly active antiretroviral therapy*. J Acquir Immune Defic Syndr, 2005. **39**: p. 613-9.
 32. Sulkowski, M., *Drug-induced liver injury associated with antiretroviral therapy that includes HIV-1 protease inhibitors*. Clin Infect Dis, 2004. **38**(Suppl 2): p. S90-7.
 33. Arribas J, P.F., Peng J, et al, *Evaluation of multiple-dose pharmacokinetics of lopinavir/ritonavir (LPV/r) in HIV and HCV co-infected patients with mild or moderate hepatic insufficiency*, in *Program and Abstracts of the 9th European AIDS Conference: Varsovia, Polonia*.
 34. Group, A.C.T., *Table of Grading Severity of Adult Adverse Experiences*, N.I.o.A.a.I.D. Rockville Md: Division of AIDS, Editor. 1996: Bethesda.
 35. Bonacini, M., *Liver injury during highly active antiretroviral therapy: The effects of hepatitis C coinfection*. Clin Infect Dis, 2004. **38**(Suppl 2): p. S104-8.
 36. Mehta SH, T.D., Torberson M, et al, *The effect of antiretroviral therapy on liver disease among adults with HIV and hepatitis C coinfection*. Hepatology, 2005. **41**: p. 123-31.
 37. Chun H, F.A., Kuppler Hullsiek K, Crum-Cianflone N, Bradley W, Ganesan A, Weintrob A, Barthel R, Landrum M, *The epidemiology of hepatitis B virus infection in HIV-1-infected individuals over 20 years: The effect of HAART and vaccination*, in *15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*. 2008: Boston.

38. Gilson, R.J., et al., *Interactions between HIV and hepatitis B virus in homosexual men: effects on the natural history of infection*. *Aids*, 1997. **11**(5): p. 597-606.
39. Alberti A, C.N., Collins S, et al *Short statement of the first European Consensus Conference on the treatment of chronic hepatitis B and C in HIV-coinfected patients*. *J. Hepatol*, 2005. **42**: p. 615-24.
40. Soriano V, P.M., Bonacini M, et al, *Care of patients with chronic hepatitis B and HIV co-infection: recommendations from an HIV-HBV Internacional Panel*. *AIDS*, 2005. **19**: p. 221-40.
41. Benhamou, Y., *Antiretroviral therapy and HIV/hepatitis B virus coinfection*. *Clin Infect Dis* 2004. **38**(Suppl 2): p. S98-103.
42. Bonacini M, L.S., Bzowej N, et al, *Survival in patients with HIV infection and viral hepatitis B or C: a cohort study*. *AIDS*, 2004. **18**: p. 2039-45.
43. Núñez M, S.V., *Hepatotoxicity of antiretrovirals: incidence, mechanism and management*. *Drug Saf*, 2005 **28**: p. 53-66.
44. Kramer J, G.T., Soucek J, El-Serag H, *Hepatitis C coinfection increase the risk of fulminant hepatic failure in patients with HIV in the HAART era*. *J Hepatol*, 2005. **42**: p. 309-314.
45. Clark S, C.S., Portmann B, Taylor C, Wendon J, Cramp M, *Acute liver failure associated with antiretroviral treatment for HIV: a report of six cases*. *J Hepatol*, 2002. **2002**(36).
46. Wit, F.W., et al., *Incidence of and risk factors for severe hepatotoxicity associated with antiretroviral combination therapy*. *J Infect Dis*, 2002. **186**(1): p. 23-31.
47. Soriano V, B.P., Martín-Carbonero L, *Hepatotoxicidad del tratamiento antirretroviral*, in *Efectos adversos del tratamiento antirretrovírico*, L. F, Editor. 2006: Madrid. p. 50-62.
48. Soriano V, B.P., Martín-Carbonero L, ed. *Hepatotoxicidad del tratamiento antirretroviral*, in *Efectos adversos del tratamiento antirretrovírico*. 2006: Madrid. 50-62.
49. den Brinker, M., et al., *Hepatitis B and C virus co-infection and the risk for hepatotoxicity of highly active antiretroviral therapy in HIV-1 infection*. *Aids*, 2000. **14**(18): p. 2895-902.
50. González de Requena D, N.M., Jiménez-Nácher I, Soriano V, *Liver toxicity caused by nevirapine*. *AIDS*, 2002. **16**: p. 290-291.
51. Bissell D, G.G., Laskin D, Hoofnagle J, *Drug-induced liver injury: mechanisms and test systems*. *Hepatology*, 2001. **33**(1009-1013).

52. Alonso G, F.A., De Dios S, Arévalo A, *Dress syndrome associated with nevirapine therapy*. Arch Intern Med, 2001. **161**: p. 2501-2502.
53. Shapiro M, W.K., Stern J, *A near-fatal hypersensitivity reaction to abacavir: case report and literature review*. AIDS Reader, 2001. **11**: p. 222-226.
54. Brinkman K, t.H.H., Burger D, Smeitink J, Koopmans P, *Adverse effects of reverse transcriptase inhibitors: mitochondrial toxicity as common pathway*. AIDS, 1998. **12**: p. 1735-1744.
55. Blanco F, B.P., Ryan P, Troya J, Arponen S, Vispo E, Martín-Carbonero L, Labarga P, González-Lahoz J, Soriano V, *Exposure to antiretrovirals and risk for advanced liver fibrosis: Harmful effect of drug-related metabolic abnormalities?*, in *15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*. 2008: Boston.
56. Chung R, E.S., Yang Y, et al, *Immune recovery is associated with persistent rise in hepatitis C virus RNA, infrequent liver test flares, and is not impaired by hepatitis C virus in co-infected subjects*. AIDS, 2002. **16**: p. 1915-1923.
57. Mastroianni C, T.V., Santopadre P, et al, *Acute clinical hepatitis in an HIV-seropositive hepatitis B carrier receiving protease inhibitor therapy*. AIDS, 1998. **12**: p. 1939-1940.
58. Antonucci G, G.D., Lanini S, Girardi E and Loiacono O, *HIV/HCV co-infection: putting the pieces of the puzzle together*. Cell Death and Differentiation, 2003. **10 S**: p. S25-S26.
59. Aguilera, V.a.B., M, *Hepatitis C and fibrosis*. Rev Esp Enferm Dig, 2004. **96**(6): p. 402-414.
60. Schuppan, *Structure of the extracellular matrix in normal and fibrotic liver: Collagens and glycoproteins*. . Semin Liver Dis 1990. **10**: p. 1-10.
61. Tuyama A, H.F., Mosoian A, Chen P, Chen B, Fiel I, Schecter A, Klotman M, Bansal M, *HIV entry and replication in stellate cells promotes cellular activation and fibrogenesis: Implications for hepatic fibrosis in HIV/HVC co-infection*, in *15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*. 2008: Boston.
62. Areson DM, F.S., Bissel DM. , *Formation of extracellular matrix in normal rat liver: lipocytes as a mayor source of proteoglycan*. Gastroenterology, 1998. **95**: p. 441-7.
63. M, A.V.a.B., *Hepatitis C and fibrosis*. Rev Esp Enferm Dig (Madrid), 2004. **96**(6): p. 402-414.

64. Knodell KG, I.K., Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, Kiernan TW, et al, *Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis*. *Hepatology*, 1981. **1**: p. 431-435.
65. Ishak K, B.A., Bianchi L, Callea F, De Grootes J, et al, *Histological grading and staging of chronic hepatitis*. *Journal of Hepatology*, 1995. **22**: p. 696-699.
66. Bedossa, P.a.P.T.f.t.M.c.s.g., *An Algorithm for the Grading of Activity in Chronic Hepatitis C*. *Hepatology*, 1996. **24**: p. 289-293.
67. Scheuer, P., *Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment*. *J Hepatol*, 1991. **13**: p. 372-4.
68. Maida I, N.M., Rios MJ, Martin-Carbonero L, Sotgiu G, Toro C, Rivas P, Barreiro P, Mura MS, Babudieri S, Garcia-Samaniego J, Gonzalez-Lahoz J, Soriano V, *Severe liver disease associated with prolonged exposure to antiretroviral drugs*. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2006. **42**(2): p. 177-82.
69. Caldwell SH, O.D., Iezzoni JC, Hespeneide EE, Battle EH, Driscoll CJ, *Cryptogenic cirrhosis: clinical characterization and risk factors for underlying disease*. *Hepatology*, 1999. **29**(3): p. 664-9.
70. Greeve M, F.L., Kim M, Combs C, Roberts J, Ascher N, Wright TL, *Cirrhosis of undefined pathogenesis: absence of evidence for unknown viruses or autoimmune processes*. *Hepatology*, 1993. **17**(4): p. 593-8.
71. Caldwell SH, C.D., *The spectrum expanded: cryptogenic cirrhosis and the natural history of non-alcoholic fatty liver disease*. *J Hepatol*, 2004. **40**(4): p. 578-84.
72. Walker U, B.J., Laguno M, Murillas J, Mauss S, Schmutz G, Setzer B, Miquel R, Gatell J, Mallolas J, *Depletion of Mitochondrial DNA in Liver Under Antiretroviral Therapy With Didanosine, Stavudine, or Zalcitabine*. *Hepatology*, 2004. **39**(2): p. 311-317.
73. Jeffrey H. Samet, N.J.H., Seville Meli, Kenneth A. Freedberg, and Anita Palepu, *Alcohol Consumption and Antiretroviral Adherence Among HIV-Infected Persons With Alcohol Problems*. *ALCOHOLISM: CLINICAL AND EXPERIMENTAL RESEARCH*, 2004. **28**(4): p. 572-577.
74. Maheshwari A, T.P., *Cryptogenic Cirrhosis and NAFLD: Are They Related?* *American Journal of Gastroenterology*, 2006. **101**: p. 664-668.

75. Schuppan D, A.J., Ruehl M, Riecken EO, *Alcohol and liver fibrosis--pathobiochemistry and treatment*. Z Gastroenterol 1995. **33**: p. 546-550.
76. CS, L., *Metabolism of alcohol*. Clin Liver Dis, 2005. **9**: p. 1-35.
77. CS, L., *Alcoholic fatty liver: its pathogenesis and mechanism of progression to inflammation and fibrosis*. Alcohol 2004. **34**: p. 9-19.
78. Moyle G, C.A., *HIV-associated lipodystrophy, metabolic complications, and antiretroviral toxicities*. HIV Clin Trials, 2002. **3**: p. 89-98.
79. Harrison SA, D.B.A., *Advances in the understanding and treatment of nonalcoholic fatty liver disease*. Drugs, 2003. **63**: p. 2379-2394.
80. Sulkowski MS, M.S., Torbenson M, et al, *Hepatic steatosis and antiretroviral drug use among adults coinfecting with HIV and hepatitis C virus*. AIDS, 2005. **19**: p. 585-92.
81. Choudhury J, S.A., *Insulin resistance and the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease*. Clin Liver Dis, 2004. **8**: p. 575-594.
82. Haque M, S.A., *The metabolic abnormalities associated with nonalcoholic fatty liver disease*. Ballieres Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2002. **16**: p. 709-731.
83. Gomez Candela C, d.C.B.A., Mateo R, et al, *Changes in carbohydrate metabolism in the HIV/AIDS patient [in Spanish]*. Nutr Hosp, 2002. **17**: p. 147-153.
84. Hadigan C, J.S., Anderson EJ, et al, *Modifiable dietary habits and their relation to metabolic abnormalities in men and women with human immunodeficiency virus infection and fat redistribution*. Clin Infect Dis, 2001. **33**: p. 710-717.
85. Sprecher DL, P.G., *How deadly is the "deadly quartet"? A post- CABG evaluation*. J Am Coll Cardiol, 2000. **36**: p. 1159-1165.
86. Carr A, C.D., *Adverse effects of antiretroviral therapy*. Lancet, 2000. **356**: p. 1423-1430.
87. Lefkowitz, J.H., *The liver in AIDS*. Semin Liver Dis, 1997. **17**(4): p. 335-44.
88. Poynard T, Y.M., Ratziu V, Lung Lai C, *Viral hepatitis C*. Lancet, 2003. **362**: p. 2095-2100.
89. Salmos-Ceron D, L.C., Morlat P, et al, *Liver disease as major cause of death among HIV-infected patients: role of hepatitis C and B viruses and alcohol*. J Hepatol 2005. **42**: p. 799-805.

90. Bravo AA, S.S., Chopra S, *Liver biopsy*. N Engl J Med, 2001. **344**: p. 495–500.
91. Strader DB, W.T., Thomas DL, Seeff LB, *Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C*. Hepatology, 2004. **39**: p. 1147-71.
92. Cadranet JF, R.P., Degos F, *Practices of liver biopsy in France: results of a prospective nationwide survey. For the Group of Epidemiology of the French Association for the Study of the Liver (AFEFL)*. Hepatology, 2000. **32**: p. 477–81.
93. Saadeh S, C.G., Carey WD, et al, *The role of liver biopsy in chronic hepatitis C*. Hepatology 2001. **33**: p. 196–200.
94. Poynard T, R.V., Bedossa P, *Appropriateness of liver biopsy*. Can J Gastroenterol, 2000. **14**: p. 543–8.
95. Merchante N, G.-G.J., Gonzalez-Serrano M, Torre-Cisneros J, Garcia-Garcia JA, Arizcorreta A, Ruiz-Morales J, Cano-Llitas P, Lozano F, Martinez-Sierra C, Macias J, Pineda JA, *Survival and prognostic factors of HIV-infected patients with HCV-related end-stage liver disease*. Aids, 2006. **20**(1): p. 49-57.
96. Perrault J, M.D., Ott BJ, Taylor WF, *Liver biopsy: complications in 1000 inpatients and outpatients*. Gastroenterology, 1978. **74**: p. 103-106.
97. Wong JB, K.R.f.t.I.H.I.T.G., *Watchful waiting with periodic liver biopsy versus immediate empirical therapy for histologically mild chronic hepatitis C*. Ann Intern Med, 2000. **133**: p.:665-675.
98. Bonny C, R.R., Ughetto S, Aublet-Cuvelier B, Baranger J, Blanchet G, et al, *Medical practices and expectations of general practitioners in relation to hepatitis C virus infection in the Auvergne region*. Gastroenterol Clin Biol, 2003. **27**: p. 1021–1025.
99. Van Thiel DH, G.J., Wright H, Tzakis A. *Liver biopsy, Its safety and complications as seen at a liver transplant center*. Transplantation 1993. **55**: p. 1087-90.
100. Maharaj B, M.R., Leary WP, Cooppan RM, Naran AD, Pirie D, et al, *Sampling variability and its influence on the diagnostic yield of percutaneous needle biopsy of the liver*. Lancet, 1986. **1**: p. 523–525.
101. Snyder N, N.A., Gajula L, Soloway R, Xiao SY, Lau DTY, Petersen J, *The APRI may be enhanced by the use of the FIBROspect II in the estimation of fibrosis in chronic hepatitis C*. Clinica Chimica Acta, 2007. **381**: p. 119–123.

102. Regev A, B.M., Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pylsopoulos NT, *Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection*. Am J Gastroenterol, 2002. **97**: p. 2614–2618.
103. Siddique I, E.-N.H., Madda JP, Memon A, Hasan F, *Sampling variability on percutaneous liver biopsy in patients with chronic hepatitis C virus infection*. Scand J Gastroenterol, 2003. **38**: p. 427–432.
104. Afdhal NH, N.D., *Evaluation of liver fibrosis: a concise review*. 2004. **99**: p. 1160–74.
105. Bedossa P, D.D., Paradis V, *Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C*. Hepatology 2003. **38**: p. 1449–57.
106. Colloredo G, G.M., Sonzogni A, Leandro G, *Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease*. J Hepatol, 2003. **39**: p. 239–244.
107. McHutchison JG, B.L., de Medina M, Craig JR, Conrad A, 420 and T.M. Schiff ER, *Measurement of serum hyaluronic acid in patients with chronic hepatitis C and its relationship to liver histology. Consensus interferon study group*. . J Gastroenterol Hepatol 2000. **15**: p.:945–951.
108. Croquet V, V.E., Ternisien C, Pilette C, Oberti F, Gallois Y, Trossaert M, Rousselet MC, Chappard D, Cales P., *Prothrombin index is an indirect marker of severe liver fibrosis*. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2002. **14**: p. 1133–1141.
109. Lok AS, G.M., Goodman ZD, Wright EC, Everson GT, Sterling RK, Everhart JE, Lindsay KL, Bonkovsky HL, Di Bisceglie AM, Lee WM, Morgan TR, Dienstag JL, Morishima C., *Predicting cirrhosis in patients with hepatitis C based on standard laboratory tests: results of the HALT-C cohort*. . Hepatology, 2005. **42**: p. 282–292.
110. Patel, K., et al., *Evaluation of a panel of non-invasive serum markers to differentiate mild from moderate-to-advanced liver fibrosis in chronic hepatitis C patients*. J Hepatol, 2004. **41**(6): p. 935-42.
111. Sud, A., et al., *Improved prediction of fibrosis in chronic hepatitis C using measures of insulin resistance in a probability index*. Hepatology, 2004. **39**(5): p. 1239-47.
112. Rosenberg WM, V.M., Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan and H.S. D, Roskams T, Pinzani M, Arthur MJ. , *Serum*

- markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study.* Gastroenterology, 2004. **127**: p. 1704–1713.
113. Imbert-Bismut F, R.V., Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poynard T., *Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study.* . Lancet, 2001. **357**: p. 1069–1075.
114. Forns X, A.S., Llovet JM, Aponte J, Quinto L, Martinez-Bauer E, Bruguera M, Sanchez-Tapias JM, Rodes J., *Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model.* Hepatology, 2002. **36**: p. 986–992.
115. Adams LA, B.M., Rossi E, DeBoer B, Speers D, George J, Kench J, Farrell G, McCaughan GW, Jeffrey GP., *Hepascore: an accurate validated predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C infection.* . Clin Chem 2005. **51**: p. 1867–1873.
116. Wai CT, G.J., Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, Lok AS, *A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C.* . Hepatology 2003. **38**: p. 518–526.
117. Cales P, O.F., Michalak S, Hubert-Fouchard I, Rousselet MC, Konate A, Gallois Y, Ternisien C, Chevaller A, Lunel F. , *A novel panel of blood markers to assess the degree of liver fibrosis.* . Hepatology, 2005. **42**: p. 1373–1381.
118. Leroy V, M.F., Bottari S, Trocme C, Sturm N, Hilleret MN, Morel F, Zarski JP., *Circulating matrix metalloproteinases 1, 2, 9 and their inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 as serum markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C: comparison with PIIINP and hyaluronic acid.* Am J Gastroenterol, 2004. **99**: p. 271–279.
119. Trocme C, L.V., Sturm N, Hilleret MN, Bottari S, Morel F, Zarski JP. , *Longitudinal evaluation of a fibrosis index combining MMP-1 and PIIINP compared to MMP-9, TIMP-1 and hyaluronic acid in patients with chronic hepatitis C treated by interferon alpha and ribavirin.* . J Viral Hepat, 2005.
120. Leroy, V., et al., *Prospective comparison of six non-invasive scores for the diagnosis of liver fibrosis in chronic hepatitis C.* J Hepatol, 2007. **46**(5): p. 775-82.
121. Myers, R.P., et al., *Serum biochemical markers accurately predict liver fibrosis in HIV and hepatitis C virus co-infected patients.* Aids, 2003. **17**(5): p. 721-5.
122. Sterling R, L.E., Clumeck N, et al. , *Can routine non-invasive tests predict liver histology in HIV/HCV co-infection?*

- [abstract]. *Analysis of patients entering the AIDS PEGASYS Ribavirin International Co-Infection Trial (APRICOT)* in Presented at: 12th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. 2005: Boston, .
123. Bambha K, F.A., Pierce C, Seaberg E, Strickler H, Howard A, Sharp G, Tien P, Peters M and WIHS, *Use of serum markers to assess progression of liver disease in HIV/HCV co-infected women*, in/5th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. 2008: Boston.
 124. Kaneda H, H.E., Yatsuji S, Tokushige K and Shiratori K, *Hyaluronic acid levels can predict severe fibrosis and platelet counts can predict cirrhosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease*. Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2006. **21**: p. 1459-1465.
 125. Ratziu V, G.P., Munteanu M, Messous M, Mercadier A, Bernard A, Morra R, Imbert-Bismut F, Bruckert E and Poynard T, *Screening for liver disease using non-invasive biomarkers (FibroTest, SteatoTest and NashTest) in patients with hyperlipidaemia*. Alimentary Pharmacology & Therapeutics, 2007. **25**: p. 207-218.
 126. Foucher J, C.E., Vergniol J, Castéra L, Bail B, Adhoute X, Bertet J, Couzigou P and Lédinghen V, *Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (FibroScan): a prospective study*. Gut, 2006. **55**: p. 403-408.
 127. Fouchera J, C.L., b, Bernard PH, Adhoutea X, Lahariea D, Berteta J, Couzigoua P and de Le' dinghena V, *Prevalence and factors associated with failure of liver stiffness measurement using FibroScan in a prospective study of 2114 examinations*. Eur J Gastroenterol Hepatol 2006. **18**: p. 411–412.
 128. Kettaneh A, M.P., Douvin C, Poupon R, Zioli M, Beaugrand M, de Lédinghen V, *Features associated with success rate and performance of fibroscan measurements for the diagnosis of cirrhosis in HCV patients: A prospective study of 935 patients*. Journal of Hepatology, 2007. **In press**.
 129. Sandrin L, F.B., Hasquenoph JM, et al, *Transient elastography: a new non-invasive method for assessment of hepatic fibrosis*. . Ultrason Med Biol, 2003. **29**: p. 1705-13.
 130. Colletta C, S.C., Fabris C, Toniutto P, Rapetti R, Minisini R, Pirisi M, *Value of Two Noninvasive Methods to Detect Progression of Fibrosis Among HCV Carriers With Normal Aminotransferases*. Hepatology, 2005. **42** (4): p. 838-845.

131. Castera L, V.J., Foucher J, et al. , *Prospective comparison of transient elastography Fibrotest, APRI and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C*. Gastroenterology 2005. **128**: p. 343-50. .
132. Ziol M, H.-L.A., Kettaneh A, et al, *Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C*. . Hepatology, 2005. **41**: p. 48-54.
133. de Lédinghen V, D.C., Kettaneh A, et al. , *Diagnosis of hepatic fibrosis and cirrhosis by transient elastography in HIV/Hepatitis C virus coinfecting patients*. J Acquir Immune Defic Syndr, 2006. **41**: p. 175-9.
134. Bedossa P, P.T., *An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C*. The METAVIR Cooperative Study Group. Hepatology, 1996. **24**: p. 289-293.
135. Fraquelli M, R.C., Casazza G, Conte D, Donato MF, Ronchi G, Colombo M., *Reproducibility of transient elastography in the evaluation of liver fibrosis in patients with chronic liver disease*. Gut, 2007. **56**(7): p. 968-73.
136. Castera L, F.X., Alberti A, *Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography*. J Hepatol, 2008. **48**(5): p. 835-47.
137. Castellares C, B.P., Martin-Carbonero L, Labarga P, Vispo ME, Casado R, Galindo L, Garcia-Gasco P, Garcia-Samaniego J, Soriano V, *Liver cirrhosis in HIV-infected patients: prevalence, aetiology and clinical outcome*. J Viral Hepat, 2008. **15**(3): p. 165-72.
138. Rauch A, G.S., Evison J, Nolan D, Cavassini M, Weber R, James I, Furrer H, *Low current and nadir CD4+ T-cell counts are associated with higher hepatitis C virus RNA levels in the Swiss HIV cohort study*. Antivir Ther, 2008. **13**(3): p. 455-60.
139. Chaisson R, S.T., Gallant J, ed. *General clinical manifestations of HIV infection*. Mandell FL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and practice of infectious diseases. 2000: Filadelfia (PA): Churchill Livingstone. 1398-415.
140. Feinberg MB, M.A., *AIDS: decline and fall of immune surveillance?* Curr Biol, 1997. **7**(3): p. R136-40.
141. Letvin NL, W.B., *Immunopathogenesis and immunotherapy in AIDS virus infections*. Nat Med, 2003. **9**(7): p. 861-6.
142. Clumeck N, P.A., Raffi F, *European AIDS Clinical Society (EACS) guidelines for the clinical management and treatment of HIV-infected adults*. HIV Med, 2008. **9**(2): p. 65-71.

143. Law WP, D.G., Duncombe CJ, Mahanontharit A, Boyd MA, Ruxrungtham K, Lange JM, Phanuphak P, Cooper DA, *Risk of severe hepatotoxicity associated with antiretroviral therapy in the HIV-NAT Cohort, Thailand, 1996-2001*. *Aids*, 2003. **17**(15): p. 2191-9.
144. Di Martino V, R.P., Boyer N, Renard P, Degos F, Martinot-Peignoux M, Matheron S, Le Moing V, Vachon F, Degott C, Valla D, Marcellin P, *The influence of human immunodeficiency virus coinfection on chronic hepatitis C in injection drug users: a long-term retrospective cohort study*. *Hepatology*, 2001. **34**(6): p. 1193-9.
145. Hernandez B, M.S., Perez-Elias MJ, Casado JL, Dronda F, Moreno A, Antela A, *Severity of the toxicity associated with combinations that include didanosine plus stavudine in HIV-infected experienced patients*. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2006. **43**(5): p. 556-9.
146. Servoss JC, K.D., Andersen JW, Reisler RB, Chung RT, Robbins GK, *Predictors of antiretroviral-related hepatotoxicity in the adult AIDS Clinical Trial Group (1989-1999)*. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2006. **43**(3): p. 320-3.
147. Vidal F, D.J., Guallar J, Saumoy M, Cordobilla B, Sanchez de la Rosa R, Giralt M, Alvarez ML, Lopez-Dupla M, Torres F, Villarroya F, Cihlar T, Domingo P, *In vitro cytotoxicity and mitochondrial toxicity of tenofovir alone and in combination with other antiretrovirals in human renal proximal tubule cells*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006. **50**(11): p. 3824-32.
148. Cherry CL, N.D., James IR, McKinnon EJ, Mallal SA, Gahan ME, Lal L, McArthur JC, Wesselingh SL, *Tissue-specific associations between mitochondrial DNA levels and current treatment status in HIV-infected individuals*. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2006. **42**(4): p. 435-40.
149. Chene G, A.B., Pedrono G, Gourelain K, Rancinan C, Journot V, Cotte L, Palmer P, Castro ND, Calvez V, Molina JM, *Changes in the peripheral blood mtDNA levels in naive patients treated by different nucleoside reverse transcriptase inhibitor combinations and their association with subsequent lipodystrophy*. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2007. **23**(1): p. 54-61.
150. Côté H, N.E., Ruiz L, et al, *Antiretroviral regimen-dependent mitochondrial DNA depletion in clinical samples from the SWATCH trial*, in *9th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*. 2002: Seattle, WA.

151. Lopez S, M.O., Martinez E, et al, *Effects of different first-line HAART regimens on the content and function of lymphocyte mitochondria of HIV-infected patients without lipodystrophy*, in *International AIDS Conference*. 2002: Barcelona, Spain.
152. Petit C, M.D., Barthelemy C, Leste-Lasserre T, Naviaux RK, Sonigo P, Leibowitch J, *Quantitation of blood lymphocyte mitochondrial DNA for the monitoring of antiretroviral drug-induced mitochondrial DNA depletion*. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2003. **33**(4): p. 461-9.
153. Setzer B, S.M., Walker UA, *Effects of of didanosine-related depletion of mtDNA in human T lymphocytes*. *J Infect Dis*, 2005. **191**(6): p. 848-55.
154. Birkus G, H.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**(3): p. 716-23.
155. Yeni PG, H.S., Hirsch MS, Saag MS, Schechter M, Carpenter CC, Fischl MA, Gatell JM, Gazzard BG, Jacobsen DM, Katzenstein DA, Montaner JS, Richman DD, Schooley RT, Thompson MA, Vella S, Volberding PA, *Treatment for adult HIV infection: 2004 recommendations of the International AIDS Society-USA Panel*. *Jama*, 2004. **292**(2): p. 251-65.
156. Venhoff N, S.B., Melkaoui K, Walker UA, *Mitochondrial toxicity of tenofovir, emtricitabine and abacavir alone and in combination with additional nucleoside reverse transcriptase inhibitors*. *Antivir Ther*, 2007. **12**(7): p. 1075-85.
157. Sabin CA, W.S., Weber R, Reiss P, El-Sadr W, Dabis F, De Wit S, Law, D'Arminio Monforte A, Friis-Moller N, Kirk O, Pradier C, Weller I, Phillips AN, Lundgren JD., *Use of nucleoside reverse transcriptase inhibitors and risk of myocardial infarction in HIV-infected patients enrolled in the D:A:D study: a multi-cohort collaboration*. *Lancet*, 2008. **371**(9622): p. 1417-26.