

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS EM GASTROENTEROLOGIA E
HEPATOLOGIA

**ELASTOGRAFIA TRANSITÓRIA EM PACIENTES INFECTADOS PELO HIV COM
ESTEATOSE HEPÁTICA IDENTIFICA UM GRUPO DE ALTO RISCO PARA
ESTEATOHEPATITE NÃO ALCOÓLICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

MARINA FERRI PEZZINI

Porto Alegre

2018

MARINA FERRI PEZZINI

**ELASTOGRAFIA TRANSITÓRIA EM PACIENTES INFECTADOS PELO HIV
COM ESTEATOSE HEPÁTICA IDENTIFICA UM GRUPO DE ALTO RISCO PARA
ESTEATOHEPATITE NÃO ALCOÓLICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação Ciências em Gastroenterologia e
Hepatologia da Universidade Federal do Rio
Grande do Sul como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre

Orientador: Prof. Dr. Hugo Cheinquer

Porto Alegre

2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Ferri Pezzini, Marina

Elastografia transitória em pacientes infectados pelo HIV com esteatose hepática identifica um grupo de alto risco para esteatohepatite não alcoólica / Marina Ferri Pezzini. -- 2018.

50 f.

Orientador: Hugo Cheinquer.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. HIV. 2. Esteatose. 3. Doença hepática gorduro não alcoólica. 4. Esteatohepatite não alcoólica . 5. Elastografia. I. Cheinquer, Hugo, orient. II. Título.

DEDICATÓRIA

Dedico esse estudo a todos os pacientes recrutados na pesquisa, do Ambulatório de HIV/AIDS do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), que se dispuseram a estar presentes em todos os procedimentos, e aos demais indivíduos portadores do HIV que possam ser beneficiados de alguma forma com os resultados desse trabalho.

AGRADECIMENTOS

Inicio meus agradecimentos por meus pais, que sempre primaram pela minha educação. Obrigada Mauro e Elaine por me oferecerem a oportunidade de estudar, pelo amor e carinho de sempre, e por mostrar-me os verdadeiros valores que norteiam o ser humano para a vida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Hugo Cheinquer, um agradecimento especial, pela oportunidade de podermos trabalhar juntos e pela confiança depositada em todas as etapas do estudo.

Ao prof. Dr. Eduardo Sprinz, pelo auxílio na elaboração do Projeto de Pesquisa.

À equipe que participou da elaboração do artigo, Drs. Alexandre de Araújo e Fernando Herz Holff.

Ao CAPES e FINE pelo apoio financeiro, sem o qual não seria possível a realização deste trabalho.

A todos os professores do Programa de Pós Graduação em Gastroenterologia e Hepatologia por fazerem parte desta jornada tão importante em minha vida.

As minhas colegas do Centro de Pesquisa Clínica do Hospital do Câncer Mãe de Deus, pela compreensão e apoio, no momento de meu afastamento para dedicar-me ao mestrado.

A toda à Equipe do Serviço de Infectologia e Gastroenterologia/Hepatologia do HCPA, pelo auxílio no recrutamento de pacientes e discussão de casos.

Agradeço a maravilhosa Equipe de Radiologia do HCPA, pela realização de todos os exames de imagem envolvidos no Projeto de Pesquisa.

A minha querida mestra, colega e amiga, Julia Poeta, pelo grande incentivo à minha vida acadêmica e profissional.

E finalmente, um agradecimento especial, à minha família e aos meus amigos pelo

incentivo para a realização desse trabalho: a todos o meu mais sincero obrigada.

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	3
LISTA DE ABREVIATURAS	5
LISTA DE FIGURAS E TABELAS	7
INTRODUÇÃO	8
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
DEFINIÇÕES.....	10
MÉTODOS PARA DETECÇÃO DE ESTEATOSE E FIBROSE.....	11
PREVALÊNCIA DE DHGNA, FIBROSE E FATORES ASSOCIADOS.....	15
JUSTIFICATIVA	18
QUESTÃO DE PESQUISA	19
HIPÓTESE	20
OBJETIVOS	21
OBJETIVO GERAL.....	21
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
ARTIGO ORIGINAL EM INGLÊS	22
CONCLUSÕES	38
PERSPECTIVAS/CONSIDERAÇÕES FINAIS	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
ANEXOS/APÊNDICES	47
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)	47
QUESTIONÁRIO	50

RESUMO

Introdução: O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) é um dos mais importantes patógenos emergentes do século XX e tornou-se um desafio de saúde pública mundial. Doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) consiste em um amplo espectro histopatológico que varia de esteatose a esteatohepatite não alcoólica (EHNA), podendo desencadear cirrose e carcinoma hepatocelular. É altamente prevalente (30-50%) em pacientes HIV positivos, em comparação à população em geral, estando associada a fatores como obesidade, dislipidemia, hipertrigliceridemia, síndrome metabólica e diabetes *mellitus*.

Objetivo: Avaliar a elastografia transitória hepática (ETH) como ferramenta para identificar um grupo de alto risco para EHNA entre pacientes infectados pelo HIV com esteatose. Foram investigados também a prevalência e fatores associados à esteatose hepática (EH) nessa população.

Métodos: Trata-se de um estudo transversal no qual pacientes infectados pelo HIV em uso de terapia antirretroviral (TARV) foram recrutados prospectivamente num período de 6 meses no ambulatório de HIV/AIDS do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Foram incluídos pacientes ≥ 18 anos e com carga viral indetectável (< 50 cópias/mL). Foram excluídos indivíduos que relataram uso de álcool acima de ≥ 20 g/dia e coinfeções com vírus da hepatite B ou C. Dados demográficos, laboratoriais, medidas antropométricas e circunferência abdominal foram coletados. Ultrassonografia de abdômen (US) foi realizada para o diagnóstico de EH. Testes não invasivos (APRI $> 1,0$; FIB-4 $> 3,0$ e EH $\geq 7,1$ kPa) foram utilizados como critério para fibrose hepática significativa. Biópsia hepática foi realizada, quando houve consentimento, para confirmação de esteatose, EHNA e fibrose.

Resultados: Foram incluídos 98 pacientes no estudo, sendo identificada EH na US em 31

(31,6%) pacientes. Esteatose foi associada ao aumento nos níveis de triglicéridos (TG), alanina aminotransferase (ALT), APRI e FIB-4, sendo independentemente associada ao sexo masculino (RP=2,2; IC 95% 1,8-4,4) e ao índice de massa corporal (IMC) elevado (RP=1,1; IC 95% 1,02-1,1). A presença de fibrose significativa avaliada por ETH, APRI e FIB-4 entre pacientes com esteatose foi de 26,9%, 6,4% and 3,2%, respectivamente. Seis pacientes com $ETH \geq 7,1kPa$ concordaram em realizar biópsia, sendo que o diagnóstico histológico foi compatível com EHNA em 5 (83.3%) e fibrose hepática sem EHNA em apenas um paciente. Nenhum dos pacientes biopsiados apresentou fibrose significativa.

Conclusão: Esteatose foi freqüente na população estudada, especialmente em homens e com IMC elevado. $ETH \geq 7,1kPa$ não foi capaz de detectar fibrose significativa, porém, detectou com precisão pacientes com alto risco de EHNA entre indivíduos monoinfectados pelo HIV com esteatose.

Palavras chave: HIV, Esteatose, Esteatohepatite, fibrose, Elastografia transitoria hepática, FIB-4, APRI.

ABSTRACT

Background: The Human Immunodeficiency Virus (HIV) is one of the most important emerging pathogens of the 20th century and has become a global public health challenge. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) consists of a broad histopathological spectrum ranging from liver steatosis (LS) to nonalcoholic steatohepatitis (NASH) which could lead to cirrhosis and hepatocellular carcinoma. NAFLD is highly prevalent (30-50%) in HIV positive patients, compared to the general population, associated with factors such as obesity, dyslipidemia, hypertriglyceridemia, metabolic syndrome and diabetes *mellitus*.

Objective: assess the role of transient elastography (TE) as tool to identify such a high risk group for NASH among of stable HIV infected patients with LS. The prevalence and factors associated with LS in this population were also investigated.

Methods: This is a cross-sectional study, which HIV infected patients were recruited prospectively over a 6-month period at the HIV/AIDS outpatient clinic of the Hospital de Clinicas de Porto Alegre (HCPA). Patients aged ≥ 18 years and with undetectable viral load (<50 copies/mL) were included. Individuals who reported alcohol use above 20g/day and coinfections with hepatitis B or C virus were excluded. Demographic, laboratory, anthropometric and abdominal circumference data were collected. Ultrasound (US) was performed for the diagnosis of LS. Non-invasive tests (APRI >1.0 , FIB-4 >3.0 and TE ≥ 7.1 kPa) were used as criteria for significant liver fibrosis. Liver biopsy was performed, when consent was given, for steatosis, NASH and fibrosis confirmation.

Results: Ninety eight patients were included in the study, and steatosis was identified by US in 31 (31.6%) patients. HS was associated with increased levels of triglycerides, alanine aminotransferase (ALT), APRI and FIB-4, being independently associated with male (PR= 2.2, 95% CI, 1.8-4.4) and body mass index (BMI) (PR = 1.1, 95% CI 1.02-1.1). The presence

of significant fibrosis, performed by TE, APRI and FIB-4 among patients with steatosis was 26.9%, 6.4% and 3.2%, respectively. Six patients with $TE \geq 7.1\text{kPa}$ agreed to perform a biopsy, and the histological diagnosis was compatible with NASH in 5 (83.3%) and liver fibrosis without NASH in only one patient. None of the biopsy patients had significant fibrosis.

Conclusion: Steatosis was frequent in the study population, especially in men and with a high BMI. $TE \geq 7.1\text{kPa}$ was not able to detect significant fibrosis, but it accurately detected patients at high risk for NASH among HIV monoinfected individuals with steatosis.

Key words: HIV, steatosis, steatohepatitis, fibrosis, transient elastography, FIB-4, APRI.

LISTA DE ABREVIATURAS

<i>AIDS</i>	Síndrome da Imunodeficiência Humana
<i>ALT</i>	Alanina aminotransferase
<i>APRI</i>	AST to Platelet Ratio Index
<i>ARVs</i>	Antirretrovirais
<i>AST</i>	Aspartato aminotransferase
<i>CAP</i>	Controlled attenuation parameter
<i>dB/m</i>	Decibel/metro
<i>ddI</i>	Didanosina
<i>d4T</i>	Estavudina
<i>DHGNA</i>	Doença hepática gordurosa não alcoólica
<i>EH</i>	Esteatose hepática
<i>EHNA</i>	Esteatohepatite não alcoólica
<i>ETH</i>	Elastografia transitória hepática
<i>EUA</i>	Estados Unidos da América
<i>FIB-4</i>	Fibrosis-4
<i>HCPA</i>	Hospital de Clinicas de Porto Alegre
<i>HCV</i>	Vírus da Hepatite C
<i>HIV</i>	Vírus da Imunodeficiência Humana
<i>HS</i>	Hepatic steatosis
<i>IC</i>	Intervalo de confiança
<i>IMC</i>	Índice de massa corporal
<i>INTR</i>	Inibidor de nucleosídeo da transcriptase reversa
<i>IP</i>	Inibidor da Protease
<i>kPa</i>	Quilopascal

<i>LSM</i>	Liver stiffness measurement
<i>NAFLD</i>	Nonalcoholic fatty liver disease
<i>NAS</i>	NAFLD Activity Score
<i>NASH</i>	Nonalcoholic steatohepatitis
<i>OMS</i>	Organização Mundial da Saúde
<i>OR</i>	Odds ratio
<i>PR</i>	Prevalence ratio
<i>RMS</i>	Ressonância magnética com espectofotometria
<i>RP</i>	Razão de prevalência
<i>TARV</i>	Terapia Antirretroviral
<i>TCLE</i>	Termo de Consentimento livre e esclarecido
<i>TE</i>	Transient elastography
<i>UNAIDS</i>	Programa Conjunto das Nações Unidas HIV/AIDS
<i>US</i>	Ultrassonografia de abdômen /Ultrasound

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1. Evolução histológica da DHGNA.

Tabela 1. Acurácia da ETH em comparação com a biópsia hepática na detecção de fibrose significativa em pacientes com DHGNA.

Tabela 2. Acurácia do CAP em comparação com a biópsia hepática para a detecção de graus de esteatose em pacientes com DHGNA.

Tabela 3. Prevalência de EHNA através de biópsia hepática.

Tabela 4. Prevalência de DHGNA e fibrose em pacientes HIV positivos.

INTRODUÇÃO

O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) é um dos mais importantes patógenos emergentes do século XX e tornou-se um desafio de saúde pública mundial (1).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) prevê que exista um total de 36,9 milhões de pessoas vivendo com HIV/AIDS, contabilizadas em 2017 (2). O Programa Conjunto das Nações Unidas HIV/AIDS (UNAIDS) indica que nesse mesmo ano, houve aproximadamente 1,8 milhões de novos casos de infecção pelo HIV em todo o mundo e que até 2020, esse número seja reduzido para 500 mil novos casos (3). No Brasil, em 2017, 48 mil novos casos foram diagnosticados, sendo que 860 mil pessoas vivem com o vírus (4). Por outro lado, nos últimos 20 anos a medicina obteve resultados positivos em termos de melhoria da expectativa de vida para adultos infectados pelo HIV. Esta descoberta resulta em mudanças importantes na história natural da doença e do vírus e na eficácia da terapia antirretroviral (TARV) (5,6). Entretanto a TARV tem sido associada ao desenvolvimento de resistência viral e ao aumento do risco de doenças metabólicas, que alteram o metabolismo lipídico e glicídico, e desencadeiam a redistribuição de gordura corporal (7). A TARV está também associada à doença hepática crônica, sendo uma das mais importantes causas de morbidade e mortalidade entre indivíduos HIV positivos (8,9). Estudos epidemiológicos em pacientes portadores do HIV em uso de TARV registram prevalências de dislipidemia que oscilam de 30 a 80% e hipertrigliceridemia de 50 a 90% (10-16). Essa variação reflete as diferentes populações estudadas, diferentes esquemas de TARV e interações com agentes para a redução de lipídios (17).

Doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) consiste em um amplo espectro clinicopatológico que varia de esteatose hepática (EH) a esteatohepatite não alcoólica (EHNA), podendo desencadear cirrose e carcinoma hepatocelular (18). Possui uma

prevalência em torno de 25% na população em geral (19), sendo associada a fatores como obesidade (20) e síndrome metabólica (21). Está presente em 30 a 50% dos pacientes HIV positivos, sendo que fatores como, gênero masculino, obesidade, dislipidemia, hipertrigliceridemia, síndrome metabólica e diabetes *mellitus* contribuem para seu desenvolvimento (10-16). A utilização de alguns antirretrovirais (ARVs) como os inibidores de nucleosídeos da transcriptase reversa (INTRs), através da toxicidade mitocondrial, e inibidores da protease (IPs), pela indução da resistência à insulina, bem como, o tempo de utilização podem influenciar para a progressão de DHGNA (22).

A ultrassonografia de abdômen (US) é o método de primeira escolha no diagnóstico de EH, avaliando a presença de gordura no fígado, entretanto não é capaz de distinguir EH de EHNA. Elastografia transitória hepática (ETH) é um método não invasivo utilizado para obter parâmetros contínuos de esteatose e fibrose. Além disso, marcadores séricos não invasivos para avaliação de fibrose, como, *AST to Platelet Ratio Index* (APRI) e *Fibrosis-4* (FIB-4) estão sendo amplamente utilizados por fazerem parte de algoritmos de diagnóstico. A maneira mais confiável para identificar a presença de EHNA e fibrose em pacientes com DHGNA é a biópsia hepática, considerada padrão ouro, porém é geralmente limitada pelo custo, erro de amostragem e morbidade relacionada ao procedimento (23). A disponibilidade e praticidade dos marcadores não invasivos, incluindo a ETH, estimulam a investigação destes métodos como alternativas para avaliação de pacientes com EH, visando identificar indivíduos com risco aumentado de EHNA ou fibrose.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

DEFINIÇÕES

DHGN, do inglês "*nonalcoholic fatty liver disease*" é uma síndrome clínico patológica que inclui uma variedade de distúrbios associados à gordura no fígado. É definida pelo acúmulo de gordura hepática, na forma de esteatose macrovesicular, em mais de 5% dos hepatócitos na ausência de outras causas de doença hepática, como consumo de álcool, medicamentos esteatogênicos, desordens hereditárias ou hepatites virais (24). DHGN pode apresentar-se como EHNA, do inglês "*nonalcoholic steatohepatitis*", uma condição cada vez mais reconhecida e caracterizada pela associação de esteatose e inflamação hepática, com ou sem fibrose (23), podendo progredir para cirrose e carcinoma hepatocelular (18).

Alguns pacientes com DHGN possuem EH sem inflamação ou fibrose associada. Os que possuem EHNA, forma da doença com maior potencial evolutivo, apresentam à histopatologia, esteatose combinada com inflamação inespecífica, balonização hepatocitária, fibrose perisinusoidal e presença de corpúsculos de Mallory (24). Fibrose hepática é definida pelo acúmulo de matriz extracelular de colágeno. O escore de fibrose foi derivado da extensão da fibrose perisinusoidal da zona 3 com possível fibrose adicional portal/periportal. Estágio 1 é caracterizado por fibrose perisinusoidal zona 3; estágio 2, por aumento da fibrose portal; estágio 3, como fibrose em ponte; e estágio 4, definido como cirrose. (25,26). (Figura 1)

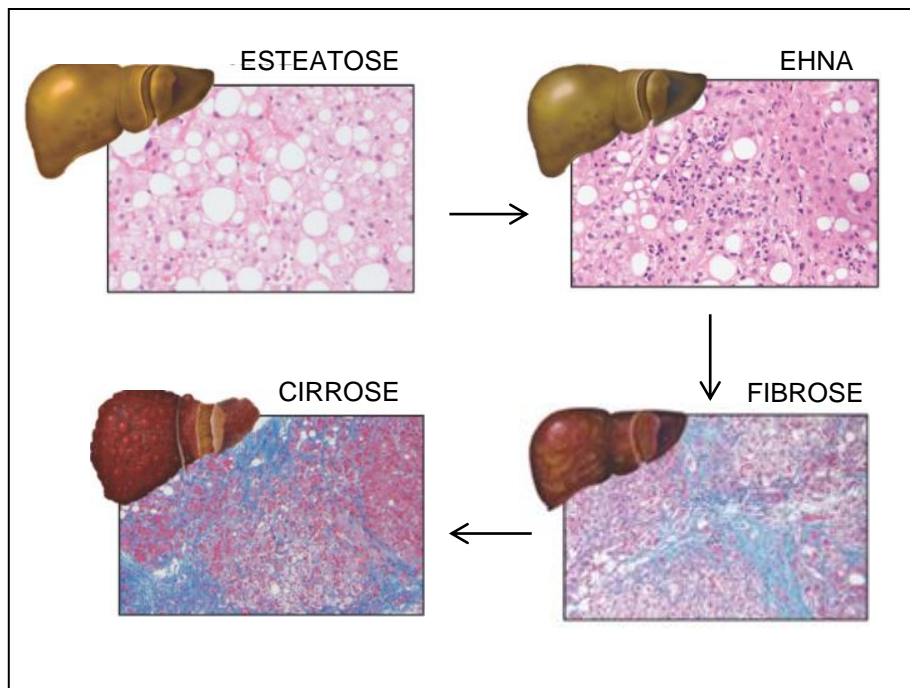


Figura 1. Evolução histológica da DHGNA.

Adaptado de: Cleveland E, *et al.* *Clinical Liver Disease*, 2018. (26)

MÉTODOS PARA DETECÇÃO DE ESTEATOSE E FIBROSE

A US é frequentemente a primeira modalidade de imagem utilizada para avaliar clinicamente DHGNA, especialmente para triagem de pacientes com suspeita dessa condição, devido a se tratar de um método não invasivo, com ampla disponibilidade e custo relativamente baixo. O achado ultrassonográfico típico de esteatose é o aumento da ecogenicidade hepática em virtude do acúmulo de vacúolos de gordura intracelular, tornando o parênquima hepático mais ecogênico do que o esplênico (27). A esteatose é relatada como sendo detectável pela US quando mais de 20% dos hepatócitos estiverem envolvidos por gordura, e de fato, a técnica não identifica níveis menores de esteatose. Bohte *et al.* investigou em uma meta análise a acurácia diagnóstica de US para avaliação de EH comparado com biópsia hepática, e constatou que o método obteve sensibilidade de 73,3 - 90,5% e especificidade de 69,6 – 85,2%, concluindo que a US não é o método considerado com maior

acurácia para detecção de EH (28). Outro estudo, realizado por Lee *et al.* também concluiu que a US não demonstra ser um procedimento de diagnóstico preciso para esteatose $\geq 30\%$ (moderada a severa), apresentando sensibilidade de 63,6% e especificidade de 98% (29).

ETH é um método não invasivo para diagnosticar esteatose e fibrose hepática. É capaz de medir a rigidez do órgão através de um transdutor de ultrassom que é montado no eixo de um vibrador. Vibrações com amplitude de frequência moderada e baixa (50 Hz) são transmitidas pelo transdutor, induzindo uma onda de cisalhamento que se propaga através dos tecidos subjacentes (30). A aquisição por ultrassom é usada para acompanhar a propagação da onda e medir sua velocidade, que está diretamente relacionada à rigidez do tecido. Com base nas características físicas (atenuação da velocidade e intensidade) da onda de cisalhamento, os dados adquiridos são processados e exibidos na tela como medida de rigidez do fígado, do inglês “liver stiffness measurement” (LSM) (expressa em kPa- Quilopascal) e parâmetro de atenuação controlada, do inglês “controlled attenuation parameter” (CAP) (expresso em dB/m- decibel/metro). Como padrão utiliza-se a sonda M para o procedimento, porém, como a ETH requer a transmissão de uma onda mecânica que se origina na pele, a obesidade é uma causa significativa de falhas técnicas e medições não confiáveis, sendo assim, a sonda XL foi desenvolvida para pacientes obesos (31). A validade da ETH para identificar fibrose e esteatose, em comparação com a biópsia hepática em indivíduos com DHGNA foi previamente estabelecida em alguns estudos (32-34,35). (Tabela 1 e 2)

Tabela 1. Acurácia da ETH em comparação com a biópsia hepática na detecção de fibrose significativa em pacientes com DHGNA.

Estudo	Ano	Sonda	N	Cut-off (kPa)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)
Cassinotto (32)	2015	M	291	6.2	90	45
Kumar (33)	2011	M	120	7.0	77	78
Imajo (34)	2016	M	127	11.0	65.2	88.7

Adaptado de: Mikolasevic I. *et al.* *World J Gastroenterol.* 2016. (36)

Tabela 2. Acurácia do CAP em comparação com a biópsia hepática para a detecção de graus de esteatose em pacientes com DHGNA.

Estudo	Ano	Sonda	N	Cut-off (dB/m)	Grau esteatose	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)
				236	1	82.3	91
Imajo (34)	2016	M	127	270	2	77.8	80.5
				302	3	64.3	73.6
				263	1	92	94
Chan (35)	2014	M	101	281	2	89	74
				283	3	93	54

Adaptado de: Mikolasevic I *et al.* *World J Gastroenterol.* 2016 (36)

Modalidades não invasivas baseadas em exames laboratoriais para avaliação de fibrose hepática também foram desenvolvidas. Dentre elas, FIB-4 e APRI vem sendo amplamente utilizados. Esses marcadores incluem escores para estimar a gravidade da doença e foram validados em pacientes com HCV(vírus da hepatite C)/HIV, por Kliemann *et al*, os

quais estabeleceram um ponto de corte de APRI $\geq 1,5$ e FIB-4 $\geq 3,25$ para fibrose significativa, com sensibilidade de 47,6% e 42,9% e especificidade de 80,3% e 54,9% respectivamente (37). Em pacientes com HIV-DHGNA, Morse *et al* demonstrou que indivíduos com um alto grau de fibrose pela biópsia tinham aumento significativo de FIB-4 em comparação com o grupo de fibrose leve (38). FIB-4 é um índice que utiliza contagem de plaquetas, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e idade, com valores de corte duplos, um menor, para exclusão de fibrose e um maior para identificação de fibrose significativa. Segundo Sumida *et al.* para um valor FIB-4 $< 1,45$, fibrose significativa poderia ser excluída com 98% de chance, enquanto que para um ponto de corte $> 3,25$, a presença de fibrose significativa poderia ser diagnosticada em 53% de pacientes com DHGNA. Neste estudo, FIB-4 teve um melhor desempenho que outros marcadores sorológicos (39). APRI é calculado utilizando a elevação de AST em relação aos valores de referência do laboratório e a contagem de plaquetas. Utilizando-se APRI com ponto de corte $> 1,0$ para o diagnóstico de fibrose avançada, observa-se sensibilidade de 30% e especificidade de 93% em pacientes com DHGNA (40). Outro estudo, conduzido por Boursier *et al*, avaliou pacientes com DHGNA e demonstrou que APRI teve 61% de sensibilidade e 76,4% de especificidade para um *cut-off* de 0,559, enquanto que FIB-4 apresentou sensibilidade de 75,6% e especificidade de 67,1% para um *cut-off* de 1,515 (fibrose avançada) (41). Entretanto, não há um ponto de corte validado e, tampouco, que apresente sensibilidade satisfatória para detectar fibrose significativa em pacientes HIV monoinfectados com DHGNA.

Biópsia hepática é considerada o procedimento padrão-ouro para o diagnóstico de esteatose, EHNA e fibrose. Entretanto, possui limitações bem conhecidas, incluindo, tratar-se de método invasivo, com variabilidade amostral e custo elevado (42), não sendo adequada para programas de triagem em larga escala. Para avaliar lesão hepática em pacientes com DHGNA, um dos scores utilizados é o NAFLD Activity Score (NAS), no qual a esteatose é

classificada em graus de 0 a 3, sendo <5% (grau 0), 5% - 33% (grau 1), 34% - 66% (grau 2) e >66,1% (grau 3) de esteatose. Inflamação lobular é representada de 0 a 3 (nenhuma, leve, moderada ou grave) e balonismo hepatocelular classifica-se como de 0 a 2 (nenhum, poucos e muitos). Uma pontuação NAS de 3 com uma pontuação de pelo menos 1 ponto em cada uma das 3 categorias (esteatose, inflamação e balonismo) são necessárias para o diagnóstico de EHNA (43). Estudos têm demonstrado através da biópsia hepática que pacientes com DHGNA e HIV/DHGNA podem desenvolver EHNA e fibrose (44-47). (Tabela 3)

Tabela 3. Prevalência de EHNA através de biópsia hepática.

Estudo	País	Ano	N	Prevalência de EHNA	Progressão Fibrose
McPherson (44)	Reino Unido	2015	108 DHGNA	75%	42%
Wong (45)	China	2010	52 DHGNA	23 – 59%	27%
Vodkin (46)	EUA	2015	33 HIV/DHGNA	63%	-
Benmassaoud (47)	Canadá	2018	17 HIV/DHGNA	100%	10,9% (METAVIR ≥F2)

Abreviaturas: EHNA, esteatohepatite não alcoólica; EUA, Estados Unidos da América; HIV, vírus da imunodeficiência humana; DHGNA, doença hepática gordurosa não alcoólica; F2, fibrose significativa.

PREVALÊNCIA DE DHGNA, FIBROSE E FATORES ASSOCIADOS

A prevalência de DHGNA em pacientes HIV positivos é consideravelmente alta ao longo do tempo. Na era pré-TARV, a interpretação mais frequente para a causa de DHGNA era tida como a presença infecções oportunistas (48,49). Na era TARV estudos relataram lesões hepáticas graves e esteatose microvesicular induzidas por drogas relacionadas à lesão mitocondrial, sendo elas os INTRs, como a didanosina (ddI) e estavudina (d4T) (50,51), que

raramente são utilizados atualmente. Com o advento dos novos esquemas da TARV, a maioria dos agentes hepatotóxicos foi retirada, e DHGNA, com ou sem fibrose, passou a ser a doença hepática mais freqüente em usuários de TARV, sendo a prevalência estimada entre 30% a 50%, conforme a população amostrada e os métodos utilizados para o diagnóstico (10-13,15,52). (Tabela 4)

Tabela 4. Prevalência de DHGNA e fibrose em pacientes HIV positivos.

Autor	Ano	País	N	Métodos diagnósticos utilizados	Desfecho
Lui (10)	2016	China	80	EH por MRS	28,7%
			23*	ETH $\geq 7,0$ kPa	27,3%
			23*	APRI $\geq 0,5$	8,7%
			23*	FIB-4 $\geq 2,67$	4,3%
Nishijima (11)	2014	Japão	435	DHGNA por US	31%
Lombardi (12)	2016	Grécia	125	EH por US	55%
				ETH $\geq 7,4$ kPa	17,6%
				APRI $\geq 1,5$	1,6%
				FIB-4 $\geq 3,25$	0,8%
Macías (13)	2014	Espanha	505	CAP ≥ 238 dB/m	40%
Vuille Lessard (15)	2016	Canadá	300	CAP ≥ 238 dB/m	48%
				ETH $\geq 7,1$ kPa	15%
Perazzo (52)	2018	Brasil	395	ETH ≥ 8.0 kPa	9%
				CAP ≥ 248 dB/m	35%

*Pacientes infectados pelo HIV com DHGNA.

Abreviaturas: EH, esteatose hepática; MRS, ressonância magnética com espectrofotometria; ETH, elastografia transitória hepática; APRI, AST to Platelet Ratio Index; FIB-4, fibrosis-4; DHGNA, doença hepática gordurosa não alcoólica; US, ultrassonografia de abdômen; CAP, controlled attenuation parameter.

Alguns fatores contribuem para o desenvolvimento de DHGNA em indivíduos

infectados pelo HIV, dentre eles gênero masculino, obesidade, dislipidemia, hipertrigliceridemia, síndrome metabólica e diabetes *mellitus*. Lombardi *et al.* recrutou 125 pacientes HIV monoinfectados e detectou que esteatose foi independentemente associada ao gênero masculino ($OR = 14,6$, IC 95% 1,4-148,2) (12). Outros autores encontraram associação de esteatose com o aumento de índice de massa corporal (IMC) ($OR = 1,20$, IC 95% 1,1-1,3, por aumento de 1 Kg/m^2) (11) e ($OR = 1,3$, IC 95% 1,2-1,5, por aumento de unidade) (13). Níveis aumentados de triglicérides entre indivíduos HIV monoinfectados com DHGNA foram encontrados por Nishijima *et al.* ($OR = 1.02$, IC 95% IC 1.00-1.04, por aumento de 10mg/dL) e níveis de ALT mais elevados ($OR = 1.03$, IC 95% IC 1.00-1.05, por aumento de 10UI/L) (11). Outro estudo de 300 pacientes infectados pelo HIV também demonstrou que DHGNA estava independentemente associada com maiores IMC e ALT. Indivíduos com esteatose tinham também maior mediana de triglicérides séricos (15). Diabetes tipo 2, dislipidemia e síndrome metabólica foram fatores associados a esteatose em outros estudos (14,52).

JUSTIFICATIVA

Dados sobre prevalência de EH e fatores associados em pacientes infectados pelo HIV no Brasil são escassos, sendo necessários dados locais para melhor definição de estratégias de rastreamento e tratamento. Métodos alternativos à biópsia hepática e que possam ser utilizados em larga escala, como a ETH e marcadores séricos, são necessários para o manejo de uma condição de alta prevalência como é o caso da EH em portadores do HIV.

QUESTÃO DE PESQUISA

Pacientes portadores do HIV tem maior prevalência de apresentar EH do que a população em geral?

Quais fatores estão associados a EH em portadores do HIV?

Marcadores não invasivos ($ETH \geq 7,1\text{kPa}$, $APRI > 1,0$ e $FIB-4 > 3,0$) são capazes de identificar fibrose significativa em um grupo de pacientes HIV positivos com esteatose?

Elastografia hepática transitória ($\geq 7,1\text{kPa}$) é capaz de identificar um grupo de alto risco para EHNA entre indivíduos portadores do HIV com esteatose?

HIPÓTESE

Indivíduos portadores do HIV tem maior probabilidade de desenvolver EH em comparação à população em geral. Potenciais fatores associados são: gênero masculino, obesidade, dislipidemia, hipertrigliceridemia, síndrome metabólica e diabetes *mellitus*.

Marcadores não invasivos para o diagnóstico de fibrose (ETH, APRI e FIB-4) apresentam acurácia satisfatória na prática clínica em pacientes portadores do HIV com esteatose.

$ETH \geq 7,1\text{kPa}$ tem capacidade de identificar um grupo de alto risco para EHNA entre pacientes infectados pelo HIV com EH.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Identificar um grupo de alto risco para EHNA entre pacientes estáveis infectados pelo HIV com EH submetidos à TARV.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar a prevalência e fatores associados à EH em pacientes infectados pelo HIV atendidos no ambulatório de HIV/AIDS do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Utilizar métodos não invasivos ($ETH \geq 7,1\text{kPa}$, $APRI > 1,0$ e $FIB-4 > 3,0$) a fim de identificar fibrose significativa em pacientes portadores do HIV com esteatose.

Comparar os achados dos testes não invasivos com o diagnóstico histológico.

ARTIGO ORIGINAL EM INGLÊS

Transient elastography in HIV infected patients with liver steatosis identifies a high risk group for non-alcoholic steatohepatitis

Abstract

Background: Chronic liver disease is an important cause of morbidity and mortality among people living with HIV and is usually related to NAFLD. Transient elastography (TE) is a noninvasive method used to identify patients at high risk for NASH and/or liver fibrosis. The aim of this study was to assess the role of TE in HIV infected patients with NAFLD.

Methods: HIV infected patients undergoing ART were enrolled between August 2016 and February 2017. Inclusion criteria: ≥ 18 years with undetectable HIV viral load. Exclusion criteria: pregnancy; alcohol intake ≥ 20 g/day and co-infection with hepatitis B or C. Patients underwent abdominal US to diagnose liver steatosis. Significant fibrosis ($\geq F2$) was considered when $APRI > 1.0$, $FIB4 > 3$ and liver stiffness ≥ 7.1 kPa. Subjects with $TE \geq 7.1$ kPa were proposed a liver biopsy and the NAFLD Scoring System ≥ 3 was considered as diagnosis of NASH. Poisson regression model was used to identify factors associated with liver steatosis.

Results: 98 patients were included. Mean age was 49 ± 11 years and 53 (54.1%) were male. Liver steatosis was diagnosed in 31 patients (31.6%) and was independently associated with male sex (PR= 2.18) and higher BMI (PR=1.08). Among the 31 patients with NAFLD, 26 had results for TE, APRI and FIB4. The prevalence of significant fibrosis assessed by TE, APRI and FIB4 was 26.9%, 6.4% and 3.2%, respectively. Seven patients (26.9%) had a TE result ≥ 7.1 kPa, which was associated with higher triglyceride levels, FIB4 score and CAP values. Six of those with $TE \geq 7.1$ kPa performed a liver biopsy and NASH was found in 5 (83.3%) and liver fibrosis without NASH in one.

Conclusions: NAFLD prevalence in HIV infected patients is higher than general population. $TE \geq 7.1$ kPa was not able to diagnose significant fibrosis, but accurately detect a subgroup of patients with high risk for NASH among HIV monoinfected individuals with steatosis.

Introduction

Human immunodeficiency virus (HIV) infection is a major global health challenge. New HIV infections are currently rising in around 50 countries. Latest estimates from 2017 indicate that almost 36.9 million people are infected worldwide [1], with around 1.8 million in Latin America [2] and 860,000 in Brazil [3]. Chronic liver disease is an important cause of morbidity and mortality among HIV positive individuals and is usually related to hepatotoxicity of antiretroviral drugs combined with co-infections and life style related factors such as obesity, metabolic syndrome and alcohol abuse. [4-9]. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) consists of a broad histopathological spectrum ranging from simple steatosis to nonalcoholic steatohepatitis (NASH) which could lead to cirrhosis and hepatocellular carcinoma [10,11]. The global prevalence of NAFLD in the general population is estimated around 25% [12], rising to 30-50% among people living with HIV. [4,6,7,13]. Ultrasound (US) is a most useful tool to identify liver steatosis, however liver biopsy is still required to diagnose NASH [14]. Transient elastography (TE) is a noninvasive method that is being used in individuals with NAFLD, combined or not with other non-invasive tests, to identify patients at high risk for NASH and/or liver fibrosis [13,15-17]. The aim of this cross-sectional prospective study was to assess the role of TE to identify such a high risk group for NASH among of stable HIV infected patients with NAFLD undergoing antiretroviral therapy (ART). Furthermore, the prevalence and risk factors associated with liver steatosis was investigated.

Materials and methods

Study Population

Stable HIV infected patients undergoing ART were consecutively enrolled between August 2016 and February 2017 at the HIV/AIDS outpatient clinic of Hospital de Clinicas de

Porto Alegre (HCPA), a National reference center for HIV management in southern Brazil. Patients ≥ 18 years old with undetectable HIV viral load (< 50 copies/mL) for at least 12 months were included. Exclusion criteria were the following: pregnancy; alcohol intake above ≥ 20 g/day and co-infection with hepatitis B or C viruses. All patients provided written informed consent. The Research Ethic Board of HCPA approved the study (study code 16-0312), which was conducted according to the Declaration of Helsinki.

Data Collection

Data was prospectively collected by a single investigator using a standardized questionnaire with demographics, physical activity and alcohol consumption. Most recent laboratory results from the last 24 weeks were obtained from electronic medical records charts. Body mass index (BMI) was calculated as weight (Kg)/height(m)². HIV specific information was also obtained, such as time since diagnosis (years), duration of ART (years), most recent CD4 T-cell count (cells/ μ L), and current ART. The following data was also collected: impaired fasting glucose (fasting blood glucose ≥ 100 and < 126 mg/dl), diabetes (fasting blood glucose ≥ 126 mg/dl or treatment with oral antidiabetic drug/insulin), [18] abnormal blood pressure ($\geq 130/85$ mmHg, or treatment with anti-hypertensive drugs), [19] lipid profile including total cholesterol (TC), LDL-C, HDL-C, and triglycerides (TG); aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and total bilirubin (TB). Metabolic syndrome was defined according to ATP-III as the presence of three or more of the following: blood pressure $\geq 130/85$ mmHg; fasting plasma glucose ≥ 110 mg/dL; waist circumference > 102 cm for men or > 88 cm for women; HDL cholesterol < 40 mg/dL for men or < 50 mg/dL for women; and triglycerides ≥ 150 mg/dL [20].

Steatosis assessment and fibrosis

All patients underwent abdominal US after at least six hours of fasting with an

experienced radiologist. The presence of liver steatosis was diagnosed based on the following imaging features: bright liver pattern, liver kidney contrast, vascular blurring and/or deep hepatic attenuation, according to previously established criteria [21]. The following non-invasive fibrosis markers were calculated: AST to Platelet Ratio *Index* (APRI) as $[\text{AST (IU/L)}/\text{AST upper limit of normal (IU/L)}/ \text{Platelets (10}^9\text{/L)} \times 100]$ [22] and FIB4 score as $[\text{age (years)} \times \text{AST (IU/L)}] / [\text{Platelets (10}^9\text{/L)} \times \text{ALT (IU/L)}]$ [23]. Cut off values used for significant fibrosis were APRI >1.0 and FIB4 >3.0. Transient elastography was performed with FibroScan® (Echosens; Paris, France) after at least 4 hours of fasting by an experienced investigator. The standard M probe was used in all except three patients that required the XL probe due to BMI ≥ 30 Kg/m². A liver stiffness result was considered reliable if the interquartile range (IQR) was <30% and the success rate was $\geq 70\%$. Significant fibrosis was considered when liver stiffness result was ≥ 7.1 kPa as previously suggested. [6,11]. The Controlled Attenuation Parameter (CAP) cut off used to detect steatosis was ≥ 238 dB/m, as previously suggested. [6,13] Subjects with TE ≥ 7.1 kPa were proposed a liver biopsy. Histological evaluation was performed by an expert liver pathologist using the NAFLD Scoring System (NAS), which is a result of the unweighted sum of scores of steatosis (0-3), lobular inflammation (0-3), and hepatocellular ballooning (0-2) ranging between 0-8. A calculated NAS ≥ 3 was considered as diagnosis of NASH [24].

Statistical analysis

Statistical tests were performed using The Statistical Package for Social Science version 18.0 (SPSS, Chicago, IL). Continuous variables were expressed as median (IQR), and categorical variables were presented as numbers (percentage). Mann-Whitney's U test was applied for comparisons of continuous variables between groups. Comparisons between categorical variables were made by the chi-square test or Fisher's exact test, when

appropriate. Poisson regression model was used to identify factors associated with liver steatosis and to detect any potential confounders. This model was chosen since it is the most accurate in estimating the prevalence ratio (PR) in cross sectional studies [25]. Multivariate models were adjusted by gender, BMI, IFG/diabetes and time on ART. Associations with a *p* value <0.05 were considered statistically significant.

Results

A total of 98 HIV infected patients were included. Mean age was 49±11 years and 53 (54.1%) were male. Median time since HIV diagnosis and median time on ART were 15 (IQR 6-20) and 11 years (IQR 5-16), respectively. Median CD4 count was 657.5 cells/μL (IQR 118-208). The most common drugs used were nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) in 52.7% of treated patients, while protease inhibitors (PIs) and non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) were prescribed in 30.9% and 16.3%, respectively. Triglyceride levels were increased (≥150mg/dL) in 54 (55.1%) patients, total cholesterol levels (≥200mg/dL) in 36 (36.7%), while ALT was above the upper limit of normal (ULN) in 23 (23.5%). Neither estimated duration of HIV nor estimated duration of ART use were associated with the presence of liver steatosis. Fatty liver was detected by ultrasound in 31/98 (31.6%) and was independently associated with the following variables: male sex and higher BMI. Higher triglyceride levels, higher ALT levels, higher APRI score and higher FIB4 score were associated with steatosis in univariate analysis. IFG/diabetes was associated with liver steatosis in univariate but not in multivariate analysis. (Tables 1 and 2)

Table 1. Variables associated with presence/absence of liver steatosis in HIV monoinfected patients.

Characteristics	No steatosis n= 67	Steatosis n= 31	Unadjusted PR (95% CI) ^a	P univariate	Adjusted PR (95% CI) ^a	P multivariate
Demographics						
Age (years)	48 ± 12	51 ± 10	1.02 (0.99–1.04)	0.164		
Sex, male (%)	31 (46.3)	22 (71.0)	2.07 (1.07–4.04)	0.032	2.18 (1.08-4.41)	0.030
BMI (Kg/m ²)*	25.2 (23-27.8)	26.8 (24.9-29.6)	1.08 (1.03–1.13)	0.003	1.08 (1.02-1.15)	0.006
Hypertension (%)	19 (28.4)	8 (25.8)	0.91 (0.47–1.79)	0.795		
IFG/Diabetes (%)	19 (28.4)	16 (51.6)	1.92 (1.08–3.40)	0.025	1.57 (0.88-2.81)	0.127
MS (%)	17 (25.4)	14 (45.2)	1.78 (1.01–3.13)	0.045		
HIV						
Time since HIV (years)*	14 (4-2)	16 (9-20)	1.02 (0.98–1.06)	0.292		
Time on ART (years)*	9 (3-17)	13 (7-16)	1.03 (0.99–1.07)	0.144	1.03 (1.00-1.07)	0.085
CD4 count (cells/μL)*	680 (539-864)	607 (538-828)	1.00 (1.00–1.00)	0.438		

Abbreviations: BMI, body mass index; IFG, impaired fasting glucose; MS, metabolic syndrome; ART, antiretroviral therapy; PR, prevalence ratio; CI, confidence interval.

Median (IQR)*

^aPrevalence ratio and confidence intervals were estimated using Poisson regression.

Table 2. Variables associated with presence/absence of liver steatosis in HIV monoinfected patients.

Characteristics	No steatosis n= 67	Steatosis n= 31	Unadjusted PR (95% CI) ^a	P univariate
Labs				
Triglycerides (mg/dL)*	148 (102-188)	199 (147-243)	1.00 (1.00–1.01)	<0.001
Total cholesterol (mg/dL)	189 ± 33	187 ± 38	1.00 (0.99–1.01)	0.784
LDL cholesterol (mg/dL)	107 ± 31	96 ± 30	0.99 (0.98–1.00)	0.089
HDL cholesterol (mg/dL)*	46 (40-60)	42 (35-53)	0.99 (0.96–1.02)	0.367
AST (U/L)*	21 (17-24)	23 (20-29)	1.01 (0.99–1.04)	0.253
ALT (U/L)*	22 (15-27)	28 (19-42)	1.02 (1.01–1.03)	<0.001
Total bilirubin (mg/dL)*	0.3 (0.3-0.6)	0.7 (0.4-2.1)	1.21 (0.99–1.47)	0.057
Fibrosis markers				
FIB4 score*	0.860 (0.630-1.220)	0.910 (0.760-1.460)	1.33 (1.08-1.64)	0.007
APRI score*	0.197 (0.154-0.306)	0.256 (0.198-1.385)	3.42 (1.53-7.64)	0.003

Abbreviations: LDL, low density protein; HDL, high density protein; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; PR, prevalence ratio; CI, confidence interval.

Median (IQR)*

^aPrevalence ratio and confidence intervals were estimated using Poisson regression.

Among the 31 patients with steatosis, 26 had results for TE, APRI and FIB4. Five patients refused to perform TE. The prevalence of significant fibrosis as assessed by TE, APRI and FIB4 among these patients was 26.9%, 6.4% and 3.2%, respectively. Seven (26.9%) of these 26 patients had a TE result ≥ 7.1 kPa, which was associated with higher triglyceride levels, higher FIB4 score and higher CAP values (Table 3). Six of the seven patients with TE ≥ 7.1 kPa agreed to a liver biopsy. Histological diagnosis was compatible with NASH in 5 (83.3%) and liver fibrosis without NASH in one. No biopsied patient had significant fibrosis (Table 4).

Table 3. Variables associated with TE \geq 7.1kPa/ TE <7.1kPa in HIV monoinfected patients.

Characteristics	TE \geq 7.1 kPa n = 7	TE <7.1 kPa n = 19	Unadjusted PR (95% CI) ^a	P univariate
Demographics				
Age (years)	50 \pm 6	51 \pm 12	0.99 (0.94–1.04)	0.694
Sex, male (%)	5 (71.4)	14 (73.7)	0.92 (0.23–3.80)	0.908
BMI (Kg/m ²)*	27.4 (24.4-32.5)	26.8 (24.7-29.3)	1.07 (0.95–1.19)	0.273
Physical activity [§] (%)	4 (57.1)	4 (21.1)	3.00 (0.86–10.4)	0.083
Hypertension (%)	2 (28.6)	2 (10.5)	2.20 (0.63–7.65)	0.215
IFG/Diabetes (%)	4 (57.1)	9 (47.4)	1.33 (0.37–4.82)	0.661
Metabolic syndrome (%)	5 (71.4)	5 (26.3)	4.00 (0.95–16.8)	0.059
HIV				
Time since HIV (years)*	20 (9-22)	16 (6-21)	1.05 (0.95–1.17)	0.353
Time on ART (years)*	14 (7-22)	14 (6-16)	1.05 (0.95–1.15)	0.367
CD4 count (cells/ μ L)*	698 (541-828)	607 (450-879)	1.00 (1.00–1.00)	0.499
Labs				
Triglycerides (mg/dL)*	240 (219-438)	175 (125-228)	1.00 (1.00–1.10)	0.037
Total cholesterol (mg/dL)	190 \pm 36	185 \pm 36	1.00 (1.00–1.02)	0.773
LDL cholesterol (mg/dL)	88 \pm 27	100 \pm 26	0.99 (0.96–1.01)	0.328
HDL cholesterol (mg/dL)*	36 (31-53)	45 (37-51)	0.97 (1.00–1.05)	0.481
AST (U/L)*	26 (20-35)	24 (21-29)	1.02 (0.95–1.10)	0.566
ALT (U/L)*	44 (28-73)	27 (20-40)	1.01 (0.99–1.04)	0.302
Total bilirubin (mg/dL)*	0.7 (0.4-2.2)	0.7 (0.3-2.5)	0.98 (0.56–1.60)	0.938
Noninvasive markers				
APRI score*	0.255 (0.149-0.447)	0.274 (0.201-0.401)	1.447 (0.15- 14.34)	0.752
FIB4 score*	0.98 (0.66- 2.64)	0.90 (0.76-1.0)	1.461 (1.15-1.86)	0.002
Transient elastography				
CAP*	360 (320-364)	272 (246-294)	1.02 (1.00-1.04)	0.049
CAP \geq 238 (dB/m) (%)	4 (57.1)	16 (84.2)	0.60 (1.00-3.72)	0.583

Abbreviations: TE, transient elastography; BMI, body mass index; IFG, impaired fasting glucose; ART, antiretroviral therapy; LDL, low density lipoprotein; HDL, high density lipoprotein; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; CAP, controlled attenuation parameter; PR, prevalence ratio; CI, confidence interval.

Median (IQR)*

[§]Physical activity was considered above 3 times a week.

^aPrevalence ratio and confidence intervals were estimated using Poisson regression.

Table 4. Characteristics of HIV patients with liver steatosis and TE ≥ 7.1 kPa underwent liver biopsy.

Characteristics	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4	Case 5	Case 6
Demographics						
Age/gender	43/male	44/male	54/male	58/male	44/male	57/female
Non invasive markers						
APRI score	0.326	1.013	0.447	0.255	0.243	0.15
FIB4 score	0.66	2.64	1.46	0.85	0.63	0.98
TE parameters						
Liver stiffness (kPa)	8.6	9.9	7.6	12	7.9	9.1
CAP	364	320	360	-	231	375
Biopsy						
Fragment size (mm)	1.6 x 0.1 x 0.1	1.5 x 0.1 x 0.1	1.7 x 0.1 x 0.1	1.6 x 0.1 x 0.1	1.3 x 0.1 x 0.1	1.6 x 0.1 x 0.1
Histologic diagnosis	NASH Fibrosis F0	Without NASH Fibrosis F1	NASH Fibrosis F0	NASH Fibrosis F0	NASH Fibrosis F1	NASH Fibrosis F1

Abbreviations: BMI, body mass index; CAP, controlled attenuation parameter; NASH, nonalcoholic steatohepatitis.

Discussion

The present study investigated the role of TE to identify a high risk group for diagnosis of NASH and/or fibrosis among stable HIV monoinfected outpatients. Furthermore, the prevalence and associated factors for NAFLD were studied. We detected NAFLD in almost a third of our sample using abdominal US. This finding is similar to the prevalence reported in a recent systematic review and meta-analysis, which found NAFLD using imaging studies in 35.3% (95% CI 28.8-42.5) of HIV monoinfected patients from countries worldwide [26]. As expected, this prevalence is higher than reported in the general population, which was found to be around 25.2% (95% CI 22.1 - 28.6) in a recent meta-analytic assessment of the global NAFLD epidemiology [12]. Nevertheless, one could safely assume that the true prevalence of NAFLD is even higher [6,16,27-28], as US is known to detect liver steatosis only

when more than 20-30% of hepatocytes are affected [23]. In our study steatosis was associated with male gender and BMI, as well as triglyceride and ALT levels. Similar results were reported by Lombardi et al. regarding male gender (OR = 14.6) [22] and several other authors regarding higher BMI (OR 1.1-1.2 per 1 Kg/m² increment) [7,13], higher triglyceride levels (OR=1.02 per 10mg/dL increment) and higher ALT levels (OR= 1.03 per 10 IU/L increment) among HIV monoinfected individuals [7]. Another large study of 300 HIV monoinfected patients also found liver steatosis to be independently associated with higher BMI and elevated ALT. Individuals with steatosis had a higher prevalence in TG levels [6]. Noteworthy, our study did not show an association between NAFLD and HIV parameters (duration of infection, duration of ART and CD4 cell count). Same results were reported in other studies [7,13].

Using TE we found seven patients with a liver stiffness above 7.1kPa among our NAFLD group. This cutoff was used as an indicator of significant fibrosis in previous publications [6,11]. Remarkably, liver histology did not show fibrosis greater than Metavir F1 in the biopsied patients, suggesting that TE may overestimate fibrosis staging in HIV patients with ultrasound detected liver steatosis. Indeed, other authors using TE cutoffs of ≥ 7.0 kPa, ≥ 7.1 kPa and ≥ 7.4 kPa suggested significant fibrosis in only 27.3% [4], 15% [6] and 17.6% [22] of HIV monoinfected patients, respectively. On the other hand, all except one of our biopsied patients had NASH, indicating that TE was capable of selecting a high risk group of HIV individuals with NAFLD that merits further evaluation. Future studies could explore different cutoff values for TE in this population, thus maximizing its usefulness as a tool to detect not only NASH, but significant fibrosis.

Interestingly, there was discordance in our sample between TE and other noninvasive fibrosis markers such as APRI and FIB4. Indeed, the majority of those patients with TE

≥7.1kPa had normal FIB4 and APRI values, which is compatible with previously published data. [4] [22].

Our study has some limitations: first, it is a cross sectional study, so is not possible to define the consecutive steps leading to the development of both steatosis and fibrosis in HIV infected patients; second, determination of liver steatosis using abdominal US has a low sensitivity and does not differentiate between simple liver steatosis and NASH; third, only a few of the NAFLD patients agreed to undergo liver biopsies, so we cannot rule out the occurrence of NASH and/or significant fibrosis among the remaining patients. Finally, the sample size prevented us to further explore multivariate analysis.

In conclusion, the fact that no significant fibrosis was found in the present study seems to corroborate the latest international guideline that does not recommend routine screening for NAFLD even among high risk groups such as type 2 diabetes, obesity and dyslipidemia [17]. Nevertheless, it is important to realize that TE is able to accurately detect a subgroup of patients with high risk for NASH among HIV monoinfected individuals with NAFLD. The significance of this finding should be validated in larger cohorts, preferably with long term follow-up. If the ability of TE to correctly identify NASH in this population is confirmed, invasive procedures such as liver biopsy could be almost entirely avoided. The fact that some patients with NASH were identified among stable HIV monoinfected individuals with NAFLD should increase our awareness about this potentially deleterious condition with a natural history not yet fully understood in this patient population.

Acknowledgements

The authors would like to acknowledge the patients, their families and all team of Hospital de Clinicas de Porto Alegre that contributed with this study.

References

1. UNAIDS- Global HIV & AIDS statistics- 2018 fact sheet. [Cited in 2018 Oct 25] Available from: <http://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>
2. UNAIDS- DATA 2018 [Cited in 2018 Oct 25] Available from: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/unaids-data-2018_en.pdf
3. UNAIDS BRAZIL. [Cited in 2018 Oct 25] Available from: <http://www.unaids.org/en/regionscountries/countries/brazil>
4. Lui G, Wong VWS, Wong GLH, Chu WCW, Wong CK, Yung IMH, *et al.* Liver fibrosis and fatty liver in Asian HIV-infected patients. *Aliment Pharmacol Ther.* 2016; 44: 411–421. DOI: [10.1111/apt.13702](https://doi.org/10.1111/apt.13702). PMID: 27301337.
5. Croxford S, Kitching A, Desai S, Kall M, Edelstein M, Skingsley A, *et al.* Mortality and causes of death in people diagnosed with HIV in the era of highly active antiretroviral therapy compared with the general population: an analysis of a national observational cohort. *Lancet Public Health.* 2017;2(1): e35-e46. DOI: [10.1016/S2468-2667\(16\)30020-2](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(16)30020-2). PMID: 29249478.
6. Vuille-Lessard É, Lebouché B, Lennox L, Routy JP, Costiniuk CT, Pexos C, *et al.* Nonalcoholic fatty liver disease diagnosed by transient elastography with controlled attenuation parameter in unselected HIV monoinfected patients. *Aids.* 2016;30: 2635–2643. DOI: [10.1097/QAD.0000000000001241](https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001241) PMID: 27603289.
7. Nishijima T, Gatanaga H, Shimbo T, Komatsu H, Nozaki Y, Nagata N, *et al.* Traditional but not HIV-related factors are associated with nonalcoholic fatty liver disease in asian patients with HIV-1 infection. *PLoS One.* 2014;9 :1–6. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087596>.
8. Sulyok M, Makara M, Rupnik Z, Ferenci T, Újhelyi E, Kormos L, *et al.* Hepatic steatosis in individuals living with HIV measured by controlled attenuation parameter: A cross-sectional study. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2015;27: 679–685. DOI: [10.1097/MEG.0000000000000339](https://doi.org/10.1097/MEG.0000000000000339). PMID: 25923943.
9. Rockstroh JK, Mohr R, Behrens G, Spengler U. Liver fibrosis in HIV: Which role does HIV itself, long-term drug toxicities and metabolic changes play? *Curr Opin HIV AIDS.* 2014;9: 365–370. DOI: [10.1097/COH.0000000000000064](https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000064). PMID: 24840057.
10. Rivero-Juárez A, Camacho A, Merchante N, Pérez-Camacho I, Macias J, Ortiz-Garcia C, *et al.* Incidence of Liver Damage of Uncertain Origin in HIV Patients Not Co-Infected with HCV/HBV. *PLoS One.* 2013;8: 7–12. DOI: [10.1371/journal.pone.0068953](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068953). PMID: [23874824](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23874824/).
11. Pembroke T, Deschenes M, Lebouché B, Benmassaoud A, Sewitch M, Ghali P, *et al.* Hepatic steatosis progresses faster in HIV mono-infected than HIV/HCV co-infected

- patients and is associated with liver fibrosis. *J Hepatol.* 2017;67: 801–808. DOI: [10.1016/j.jhep.2017.05.011](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.05.011). PMID: 28527666.
12. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology.* 2016;64 :73–84. DOI: [10.1002/hep.28431](https://doi.org/10.1002/hep.28431). PMID: 26707365.
 13. Macías J, González J, Tural C, Ortega-González E, Pulido F, Rubio R, et al. Prevalence and factors associated with liver steatosis as measured by transient elastography with controlled attenuation parameter in HIV-infected patients. *Aids* 2014;28: 1279–1287. DOI: [10.1097/QAD.0000000000000248](https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000248). PMID: 24614088.
 14. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD. Liver biopsy. *Hepatology.* 2009; 49: 1017–1044. DOI: [10.1002/hep.22742](https://doi.org/10.1002/hep.22742). PMID: 19243014.
 15. Schmid P, Bregenzner A, Huber M, Rauch A, Jochum W, Müllhaupt B, et al. Progression of liver fibrosis in HIV/HCV co-infection: A comparison between non-invasive assessment methods and liver biopsy. *PLoS One* 2015;10: 1–18. DOI: [10.1371/journal.pone.0138838](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138838). PMID: 26418061.
 16. Macías J, Real LM, Rivero-Juárez A, Merchante N, Camacho A, Neukam K, et al. Changes in liver steatosis evaluated by transient elastography with the controlled attenuation parameter in HIV-infected patients. *HIV Med.* 2016;17: 766–773. DOI: [10.1111/hiv.12384](https://doi.org/10.1111/hiv.12384). PMID: 27028546.
 17. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology.* 2018;67: 328–357. DOI: [10.1002/hep.29367](https://doi.org/10.1002/hep.29367). PMID: 28714183.
 18. Professional Practice Committee: Standards of Medical Care in Diabetes—2018. *Diabetes Care* 2018; 41:S3–S3. [cited 2018 nov 7]. Available from: <https://diabetesed.net/wp-content/uploads/2017/12/2018-ADA-Standards-of-Care.pdf>
 19. Whelton PK, Carey RM, Aronow WS, Casey DE, Collins KJ, Dennison Himmelfarb C, et al. 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Pr. *J Am Coll Cardiol* 2018; 71:e127–e248. DOI: [10.1161/HYP.0000000000000066](https://doi.org/10.1161/HYP.0000000000000066). PMID: 29133354.
 20. Rezaianzadeh A, Namayandeh SM, Sadr SM. National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III Versus International Diabetic Federation Definition of Metabolic Syndrome, Which One is Associated with Diabetes Mellitus and Coronary Artery Disease?. *Int J Prev Med.* 2012;3(8): 552-8. PMID: [22973485](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22973485/).

21. Lee SS, Park SH. Radiologic evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014;20: 7392–7402. DOI: [10.3748/wjg.v20.i23.7392](https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i23.7392) PMID: [24966609](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24966609/).
22. Lombardi R, Sambatakou H, Mariolis I, Cokkinos D, Papatheodoridis G V., Tsochatzis EA. Prevalence and predictors of liver steatosis and fibrosis in unselected patients with HIV mono-infection. *Dig Liver Dis*. 2016;48: 1471–1477. DOI: [10.1016/j.dld.2016.08.117](https://doi.org/10.1016/j.dld.2016.08.117). PMID: 27623186.
23. Lombardi R, Lever R, Smith C, Marshall N, Rodger A, Bhagani S, et al. Liver test abnormalities in patients with HIV mono-infection: Assessment with simple noninvasive fibrosis markers. *Ann Gastroenterol*. 2017;30: 349–356. DOI: [10.20524/aog.2017.0141](https://doi.org/10.20524/aog.2017.0141). PMID: [28469366](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28469366/).
24. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, *et al*. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005; 41(6): 1313–1321.
25. Barros AJD, Hiraakata VN. Alternatives for logistic regression in cross-sectional studies: An empirical comparison of models that directly estimate the prevalence ratio. *BMC Med Res Methodol*. 2003. 3:21 DOI:[10.1186/1471-2288-3-21](https://doi.org/10.1186/1471-2288-3-21). PMID:14567763
26. Maurice JB, Patel A, Scott AJ, Patel K, Thursz M, Lemoine M. Prevalence and risk factors of nonalcoholic fatty liver disease in HIV-monoinfection. A systemic Review and Meta-Analysis. 2017;31(11): 1621-1632. DOI: [10.1097/QAD.0000000000001504](https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001504). PMID: 28398960.
27. Price JC, Ma Y, Scherzer R, Korn N, Tillinghast K, Peters MG, et al. Human immunodeficiency virus–infected and uninfected adults with non–genotype 3 hepatitis C virus have less hepatic steatosis than adults with neither infection. *Hepatology*. 2017;65(3): 853-863. DOI: [10.1002/hep.28968](https://doi.org/10.1002/hep.28968). PMID: 27981599.
28. Price JC, Dodge JL, Ma Y, Scherzer R, Korn N, Tillinghast K, et al. Controlled attenuation parameter and magnetic resonance spectroscopy-measured liver steatosis are discordant in obese HIV-infected adults. *Aids*. 2017;31: 2119–2125. DOI: [10.1097/QAD.0000000000001601](https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001601). PMID: 28723710

CONCLUSÕES

Ao avaliar a população atendida no ambulatório de HIV/AIDS do HCPA, constatou-se que EH apresenta prevalência elevada, ademais, comprovou-se o que já é conhecido na literatura, que fatores como gênero masculino, IMC e ALT elevados e hipertrigliceridemia estão associados em pacientes portadores do HIV com EH.

Indivíduos com $ETH \geq 7.1 \text{ kPa}$ apresentaram na biópsia hepática fibrose leve em 50% e EHNA em 83.3%. Este achado sugere que a ETH pode superestimar o estadiamento da fibrose em pacientes HIV com esteatose. Por outro lado, a ETH foi capaz de detectar com precisão um subgrupo de pacientes com alto risco de EHNA entre indivíduos monoinfectados pelo HIV com EH.

O fato de que nenhum paciente apresentou fibrose significativa no diagnóstico histológico parece corroborar com as últimas diretrizes internacionais que não recomendam a triagem de rotina para DHGNA, mesmo entre os grupos de alto risco, como diabetes tipo 2, obesidade e dislipidemia (22). Isso se deve aos limitados conhecimentos sobre a história natural e o diagnóstico da doença, a dificuldade de identificar testes sensíveis e específicos, e às restritas opções de tratamento disponíveis até o atual momento.

PERSPECTIVAS/CONSIDERAÇÕES FINAIS

Novos estudos podem ser desenvolvidos com o objetivo de explorar diferentes pontos de corte para ETH em indivíduos infectados pelo HIV com esteatose, maximizando assim, sua utilidade como uma ferramenta para detectar não apenas EHNA, mas também fibrose significativa.

O significado da ocorrência de EHNA na maioria dos pacientes biopsiados deve ser validada em coortes maiores, de preferência com seguimento a longo prazo. Se a capacidade do ETH de identificar corretamente a EHNA nessa população for confirmada, procedimentos invasivos, como a biópsia hepática, poderiam ser evitados.

O fato de que alguns pacientes com EHNA foram identificados entre indivíduos monoinfectados com HIV estáveis com esteatose deve aumentar nossa vigilância sobre essa condição cuja história natural ainda não é totalmente compreendida nesta população.

REFERÊNCIAS

1. Korber B, Muldoon M, Theiler J, Gao F, Gupta R, Lapedes A et al. Timing the ancestor of the HIV-1 pandemic strains. *Science*. 2000; 288 (5472): 1789-96.
2. WHO- HIV/AIDS. Disponível em: <http://www.who.int/gho/hiv/en/> Acessado em 07 Novembro 2018.
3. UNAIDS DATA 2018. Disponível em: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/unaids-data-2018_en.pdf Acessado em 07 Novembro 2018
4. UNAIDS BRAZIL. Disponível em: <http://www.unaids.org/en/regionscountries/countries/brazil> Acessado em 07 Novembro 2018.
5. Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med*. 1998; 338 (13): 853–60.
6. Kasamba I, Baisley K, Mayanja BN, Maher D, Grosskurth H. The impact of antiretroviral treatment on mortality trends of HIV-positive adults in rural Uganda: a longitudinal population-based study, 1999-2009. *Trop Med Int Health*. 2012; 17(8): e66-73.
7. Guiguet M, Boué F, Cadranel J, Lang JM, Rosenthal E, Costagliola D. Clinical Epidemiology Group of the FHDHANRS CO4 cohort. Effect of immunodeficiency, HIV viral load, and antiretroviral therapy on the risk of individual malignancies (FHDH-ANRS CO4): a prospective cohort study. *The Lancet Oncology*; 2009; 10 (12): 1152-1159.

8. Bica I, McGovern B, Dhar R, Stone D, McGowan K, Scheib R et al. Increasing mortality due to end stage liver disease in patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis*. 2001; 32 (3): 492-497.
9. Rivero-Juarez A, Camacho A, Merchante N, Camacho IP, Macias J, Garcia CO, et al. Incidence of liver damage of uncertain origin in HIV patients not co-infected with HCV/ HBV. *PLoS ONE*, 2013; 8: (7): e68953.
10. Lui, G., Wong, V. W.-S., Wong, G. L.-H., Chu, W. C.-W., Wong, C.-K., Yung et al. Liver fibrosis and fatty liver in Asian HIV-infected patients. *Aliment Pharmacol Ther*, 2016; 44 (4): 411–421.
11. Nishijima, T., Gatanaga, H., Shimbo, T., Komatsu, H., Nozaki, Y, Nagata N et al. Traditional but Not HIV-Related Factors Are Associated with Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Asian Patients with HIV-1 Infection. *PLoS ONE*, 2014; 9 (1): e87596.
12. Lombardi R, Sambatakou H, Mariolis, I, Cokkino D, Papatheodoridis GV, Tsochatzis EA. Prevalence and predictors of liver steatosis and fibrosis in unselected patients with HIV mono-infection. *Digestive and liver disease*. 2016; 48 (12): 1471-1477.
13. Macías J, González J, Tural C, Ortega-González E, Pulido F, Rubio R et al. Prevalence and factors associated with liver steatosis as measured by transient elastography with controlled attenuation parameter in HIV-infected patients. *AIDS*, 2014; 28 (9): 1279-87.
14. Xiao J, Han N, Yang D, Zhao H, Liver steatosis in Chinese HIV-infected patients with hypertriglyceridemia: characteristics and independent risk factors. *Virol J*. 2013; 14 (10): 261.
15. Vuille-Lessard É, Lebouché B, Lennox L, Routy JP, Costiniuk CT, Pexos C, et al. Nonalcoholic fatty liver disease diagnosed by transient elastography with controlled

- attenuation parameter in unselected HIV monoinfected patients. *AIDS*. 2016; 30 (17): 2635–2643.
16. Lombardi R, Lever R, Smith C, Marshall N, Rodger A, Bhagani S et al. Liver test abnormalities in patients with HIV mono-infection: assessment with simple noninvasive fibrosis markers. *Ann Gastroenterology*. 2017; 30 (3): 349-356.
 17. Malvestutto CD, Aberg JA. Management of dyslipidemia in HIV-infected patients. *Clin Lipidol*. 2011; 6 (4): 447-462.
 18. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*. 2002; 346 (16): 1221-1231.
 19. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*, 2016; 64 (1): 73–84.
 20. Hu YY, Dong NL, Qu Q, Zhao XF, Yang HJ. The correlation between controlled attenuation parameter and metabolic syndrome and its components in middle-aged and elderly nonalcoholic fatty liver disease patients. *Medicine (Baltimore)*. 2018; 97 (43): e12931.
 21. Kim D, Touros A, Kim WR. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Metabolic Syndrome. *Clin Liver Dis*. 2018; 22 (1): 133-140.
 22. Núñez M. Hepatotoxicity of antiretrovirals: incidence, mechanisms and management. *J Hepatol*. 2006; 44 (1): S132-S139.
 23. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*, 2018; 67 (1): 328–357.

24. Ahmed A, Wong RJ, Harrison SA. Nonalcoholic Fatty Liver Disease Review: Diagnosis, Treatment, and Outcomes. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2015; 13 (12): 2062-70.
25. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol*, 1999; 94(9): 2467–74.
26. Cleveland E, Bandy A, Van Wagner LB. Diagnostic Challenges of Nonalcoholic Fatty Liver Disease/Nonalcoholic Steatohepatitis. *Clinical liver disease*. 2018; 11 (4): 98-104. (26).
27. Byrne CD, Patel J, Scorletti E, Targher G. Tests for diagnosing and monitoring non-alcoholic fatty liver disease in adults. *BMJ*. 2018; 362: k2734
28. Bohte AE, van Werven JR, Bipat S, Stoker J. The diagnostic accuracy of US, CT, MRI and H-MRS for the evaluation of hepatic steatosis compared with liver biopsy: a meta-analysis. *Eur Radiol*, 2011; 21(1): 87–97.
29. Lee SS, Park SH, Kim HJ, Kim SY, Kim MY, Kim DY et al. Non-invasive assessment of hepatic steatosis: prospective comparison of the accuracy of imaging examinations. *J Hepatology*. 2010; 52 (4): 579-85.
30. A Ozturk, JR Grajo, M Dhyani, BW Anthony, AE Samir. Principles of ultrasound elastography. *Abdom Radiol*. 2018; 43 (4): 773-785
31. Wong VW, Chan HL. Transient elastography. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010; 25 (11): 1726–31.
32. Cassinotto C, Boursier J, de Lédinghen V, Lebigot J, Lapuyade B, Cales P, et al. Liver stiffness in nonalcoholic fatty liver disease: A comparison of supersonic shear imaging, FibroScan, and ARFI with liver biopsy. *Hepatology*. 2016; 63(6): 1817–1827.

33. Kumar, R., Rastogi, A., Sharma, M.K. *et al.* Liver Stiffness Measurements in Patients with Different Stages of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Diagnostic Performance and Clinicopathological Correlation. *Dig Dis Sci.* 2013; 58 (1): 265-274.
34. Imajo K, Kessoku T, Honda Y, Tomeno W, Ogawa Y *et al.* Magnetic Resonance Imaging More Accurately Classifies Steatosis and Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease Than Transient Elastography. *Gastroenterology.* 2016; 150(3): 626–637.
35. Chan WK, Nik Mustapha NR, Mahadeva S. Controlled attenuation parameter for the detection and quantification of hepatic steatosis in nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol.* 2014; 29(7): 1470–1476.
36. Mikolasevic I, Orlic L, Franjic N, Hauser G, Stimac D, Milic S. Transient elastography (FibroScan(®)) with controlled attenuation parameter in the assessment of liver steatosis and fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease - Where do we stand? *World J Gastroenterol.* 2016; 22 (32): 7236-51.
37. Kliemann DA, Wolff FH, Tovo CV, Alencastro PR, Ikeda ML, Brandão AB *et al.* Biochemical non-invasive assessment of liver fibrosis cannot replace biopsy in HIV-HCV coinfecting patients. *Ann Hepatol.* 2016; 15 (1): 27-32.
38. Morse CG, McLaughlin M, Matthews L, Proschan M, Thomas F, Gharib AM, *et al.* Nonalcoholic Steatohepatitis and Hepatic Fibrosis in HIV-1-Monoinfected Adults With Elevated Aminotransferase Levels on Antiretroviral Therapy. *Clin Infect Dis.* 2015; 60 (10): 1569±78
39. Sumida Y, Yoneda M, Hyogo H, *et al.* Validation of the FIB-4 index in a Japanese nonalcoholic fatty liver disease population. *BMC Gastroenterol.* 2012; 12:2.

40. Tapper EB, Krajewski K, Lai M, Challies T, Kane R, Afdhal N et al. Simple non-invasive biomarkers of advanced fibrosis in the evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterol Rep.* 2014; 2(4): 276–280
41. Boursier J, Vergnio J, Guillet A, Hiriart JB, Lannes A, Bail BL et al. Diagnostic accuracy and prognostic significance of blood fibrosis tests and liver stiffness measurement by FibroScan in non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology.* 2016; 65(3): 570-578.
42. N Chalasani, Z Younossi, JE Lavine, AM Diehl, EM Brunt, Cusi KM, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology.* 2012; 55 (6): 2005-2023.
43. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2005; 41(6): 1313–1321.
44. McPherson S, Hardy T, Henderson E, Burt AD, Day CP, Anstee QM. Evidence of NAFLD progression from steatosis to fibrosing-steatohepatitis using paired biopsies: implications for prognosis and clinical management. *J Hepatol,* 2015; 62(5): 1148–1155.
45. Wong VW, Wong GL, Choi PC, Chan AW, Li MK, Chan HY et al. Disease progression of non-alcoholic fatty liver disease: a prospective study with paired liver biopsies at 3 years. *Gut.* 2010; 59 (7): 969–974.
46. I. Vodkin, M. A. Valasek, R. Bettencourt, E. Cachay, R. Loomba. Clinical, biochemical and histological differences between HIV-associated NAFLD and

- primary NAFLD: a case–control study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015; 41 (4): 368–378.
47. Benmassaoud A, Ghali P, Cox J, Wong P, Szabo J, Deschenes M, et al. Screening for nonalcoholic steatohepatitis by using cytokeratin 18 and transient elastography in HIV mono- infection. *PLoS ONE.* 2018; 13 (1): e0191985.
48. Beale TJ, Wetton CW, Crofton ME. A sonographic-pathological correlation of liver biopsies in patients with the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Clin Radiol.* 1995; 50 (11): 761–764.
49. Trojan A, Kreuzer KA, Flury R, et al. Liver changes in AIDS. Retrospective analysis of 227 autopsies of HIV-positive patients. *Pathologie.* 1998; 19 (3): 194-200. (Em alemão)
50. Ristig M, Drechsler H, Powderly HG. Hepatic Steatosis and HIV Infection. *AIDS Patient Care and STDs.* 2005; 19 (6): 356-65.
51. Mokrzycki MH, Harris C, May H, Laut J, Palmisano J. Lactic acidosis associated with Stavudine administration: a report of five cases. *Clin Infect Dis* 2000; 30 (1): 198–200.
52. Perazzo H, Cardoso SW, Yanavich C, Nunes EP, Morata M et al. Predictive factors associated with liver fibrosis and steatosis by transient elastography in patients with HIV mono-infection under long-term combined antiretroviral therapy. *J Int AIDS Soc.* 2018; 21(11): e25201.

ANEXOS/APÊNDICES

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Aprovação do projeto de pesquisa sob nº 160312.

Prevalência de esteatose hepática em pacientes HIV positivos atendidos no Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa cujo objetivo é investigar a prevalência de esteatose hepática, em pacientes infectados pelo vírus do HIV. Esta pesquisa está sendo realizada pelo ambulatório de HIV/AIDS do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). A esteatose hepática caracteriza-se pelo acúmulo de gordura no fígado. Vários fatores estão associados a essa patologia em pacientes HIV positivos, dentre eles, pode-se citar: uso de TARV (terapia antirretroviral), obesidade, dislipidemia (distúrbios nos níveis de gordura no sangue), lipodistrofia (distribuição de gordura corporal de forma anormal), hipertrigliceridemia (triglicerídeos acima do valor de referência), hipertensão, síndrome metabólica (conjunto de fatores relacionados ao desenvolvimento de doenças cardíacas e vasculares) e diabetes *mellitus*. Se você aceitar participar da pesquisa, os procedimentos envolvidos em sua participação são os seguintes: responder a um questionário sobre informações clínicas, que leva em torno de quinze minutos e que serão utilizadas apenas para o objetivo da pesquisa, além de uma ultrassonografia do abdômen (US). A ultrassonografia detecta se o paciente possui esteatose hepática. É um exame que utiliza ultrassons para produzir imagens dos órgãos. O paciente fica deitado e um gel condutor transparente é aplicado sobre o abdômen para transmissão das ondas e do som. Uma sonda chamada

transdutor é movida sobre o gel, para a geração das imagens. É uma técnica não invasiva, rápida e indolor. Medidas de peso, altura e circunferência abdominal também serão realizadas. Haverá consulta aos prontuários dos pacientes para informações referentes à NADIR CD4 e CD4 atual, que constam no questionário, bem como, glicemia de jejum, triglicérides, colesterol total, colesterol HDL e colesterol LDL. Dessa forma, o pesquisador responsável e os demais pesquisadores, solicitam a autorização para acessarem os prontuários.

Os possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da participação na pesquisa são: não são conhecidos riscos pela participação na pesquisa, porém pode haver um desconforto na realização da ultrassonografia, bem como, tempo de resposta ao questionário. Além disso, poderá haver algum constrangimento nas medidas de peso e altura.

A participação na pesquisa não trará benefícios diretos aos pacientes, porém os resultados deste estudo poderão ser utilizados, no futuro, para definir mudança no tratamento para cada paciente de forma individualizada, a fim de diminuir a ocorrência de esteatose hepática em pacientes HIV positivos.

Sua participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não participar, ou ainda, desistir de participar e retirar seu consentimento, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que você recebe ou possa vir a receber na instituição. Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela sua participação na pesquisa e você não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos, porém, poderá ser ressarcido por despesas decorrentes de sua participação, cujos custos serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa. Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante de sua participação na pesquisa, você receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal. Os dados coletados durante a pesquisa serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados serão apresentados de forma conjunta, sem a identificação dos participantes, ou seja, o seu nome

não aparecerá na publicação dos resultados.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Prof. Dr. Eduardo Sprinz, pelo telefone (51) 3359. 8000, com a pesquisadora Marina Ferri Pezzini, pelo telefone (54) 99513787 ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone (51) 3359. 7861, ou no 2º andar do HCPA, sala 2227, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e outra para os pesquisadores.

Nome do participante da pesquisa

Assinatura

Nome do pesquisador que aplicou o Termo

Assinatura

Local e Data: _____

QUESTIONÁRIO

Data / / Nº prontuário:

Nome:

Data nascimento: / / Sexo: Idade:

Raça: () Branca () Negra () Parda

Peso: Altura: IMC: CA:

Tempo diagnóstico HIV (anos): Tempo de TARV (anos): CD4 Atual: NADIR CD4:

Esquema TARV atual

() ZDV () TNF () 3TC () RTV () EFZ () ATV () LPV () RAL () DRV
() ETV () T20

Esquema TARV utilizado

() ZDV () TNF () 3TC () RTV () EFZ () ATV () LPV () RAL () DRV
() ETV () T20 () ddI () d4T () ddC () SQV () NFV

Anti hipertensivos () Sim () Não

Hipolipemiantes () Sim () Não

Outras medicações:

Atividade física () Sim () Não

Frequência (vezes/semana):

Tabagista () Sim () Não

Tempo (anos):

Uso álcool: () Sim () Não

Quantidade/Vezes por semana:

Hipertensão () Sim () Não

Diabetes *Mellitus* () Sim () Não

Glicemia de jejum:

Síndrome Metabólica: () Sim () Não

Dislipidemia () Sim () Não

Hipertrigliceridemia () Sim () Não

Hiperglicemia () Sim () Não

Outras comorbidades

CT:

LDL:

HDL:

TG:

BT:

ALT:

AST: