



UNIVERZITET U NOVOM SADU
MEDICINSKI FAKULTET
KLINIČKA MEDICINA

**UTICAJ STEATOZE JETRE NA
EFIKASNOST ANTIVIRUSNE
TERAPIJE HRONIČNOG
HEPATITISA C**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor: prof. dr Milotka Fabri

Kandidat: mr sci med Tomislav Preveden

Novi Sad, 2012

SADRŽAJ

1.UVOD	1
1.1.Pojam i značaj udruženosti steatoze i hepatitisa C	1
1.2.HEPATITIS C	4
1.2.1.Definicija	4
1.2.2.Etiologija	4
1.2.3.Životni ciklus HCV	6
1.2.4.HCV patogeneza	7
1.2.5.Epidemiologija HCV infekcije	8
1.2.6.Klinička slika i tok HCV infekcije	10
1.2.7.Ekstrahepatalne manifestacije hronične HCV infekcije	14
1.2.8.Dijagnoza HCV infekcije	15
1.2.9.Biopsija jetre	18
1.2.10.Terapija hepatitisa C	21
1.2.10.1.Lečenje akutnog hepatitisa C	23
1.2.10.2.Lečenje hroničnog hepatitisa C	23
1.2.10.3.Neželjeni efekti terapije	26
1.2.10.4.Lečenje bolesnika koji nemaju adekvatan odgovor na antivirusnu terapiju	27
1.2.10.5.Novi lekovi	28
1.3.STEATOZA JETRE	28
1.4.HEPATITIS C VIRUS I STEATOZA JETRE	31
2.CILJEVI ISTRAŽIVANJA	37
3.RADNE HIPOTEZE	38
4.MATERIJAL I METODE RADA	39

4.1.Konstrukcija i način izbora uzorka.....	39
4.2.Kriterijumi za uključivanje u studiju.....	39
4.3.Kriterijumi za neuključivanje u studiju.....	39
4.4.Kriterijumi za isključivanje iz studije.....	40
4.5.Dijagnostika hroničnog hepatitisa C.....	41
4.6.Protokol ispitivanja.....	43
4.7.Metode statističke obrade podataka.....	44
5.REZULTATI.....	46
5.1.Opšte demografske, kliničke i biohemijske karakteristike uzorka.....	46
5.2.Virusološke karakteristike uzorka.....	53
5.3.Patohistološke karakteristike uzorka.....	55
5.4.Faktori udruženi sa steatozom.....	58
5.5.Uticaj steatoze na uspeh antivirusnog lečenja(SVR).....	79
5.6.Uticaj demografskih, biohemijskih, virusoloških i patohistoloških faktora na SVR.....	80
6.DISKUSIJA.....	87
6.1.Prevalenca steatoze u hroničnom hepatitisu C.....	87
6.2.Predisponirajući faktori za nastanak steatoze u hroničnom hepatitisu C.....	90
6.3.Uticaj steatoze jetre na uspeh antivirusnog lečenja hroničnog hepatitisa C (SVR).....	95
7.ZAKLJUČCI.....	103
8.DODACI.....	105
8.1.Spisak skraćenica.....	105
8.2.Protokol ispitivanja.....	107
9.LITERATURA.....	110

1.UVOD

1.1.POJAM I ZNAČAJ UDRUŽENOSTI STEATOZE I HEPATITISA C

Hronični hepatitis C i steatoza jetre se često javljaju udruženo kod iste osobe, obe imaju porast prevalence i predstavljaju sve značajniji zdravstveni problem. Hepatitis C virusna infekcija i nealkoholna masna bolest jetre -nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD), su dva najčešća uzroka hronične bolesti jetre u razvijenim zemljama. Obe bolesti poprimaju epidemijske razmere i broj obolelih osoba se iz godine u godinu povećava.

Obe su savremene bolesti, tek nedavno izdvojene kao poseban klinički entitet i obe povezane sa modernim načinom života . Hepatitis C je proistekao iz virusnih hepatitisa koji nisu pripadali ni A ni B virusnom hepatitisu (nonAnonB hepatitis), i od tek nešto više od 20 god je nazvan tako, dok se steatoza jetre pojavljuje kao deo nealkoholne masne bolesti jetre (NAFLD) o kojoj se kao takvoj govori unazad 20 godina. Jedna je povezana sa porastom krvno transmisivnih bolesti koje su poslednje dve deceniji u žiži medicinskih istraživanja nakon pojave AIDS-a (acquired immune deficiency syndrome) . Druga je povezana sa modernim načinom života, konzumacijom energetski bogate hrane, manjkom fizičke aktivnosti i porastom gojaznosti sa svim njenim posledicama (dijabetes, kardiovaskularne bolesti, bolesti lokomotornog sistema). Obe bolesti su povezane sa insulinskom rezistencijom, novootkrivenim stanjem i glavnim patofiziološkim mehanizmom metaboličkog sindroma, o kojem se u poslednjoj deceniji sve više govori. O hepatitisu C i o steatozi jetre se danas govori kao o metaboličkim

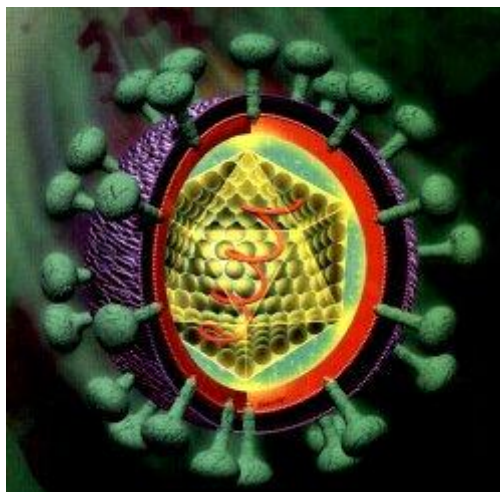
bolestima, steatoza jetre se smatra hepatičkom manifestacijom insulinske rezistencije, a na pojavu steatoze i insulinske rezistencije utiče hepatitis C virusna infekcija. Dokazano je steatogeno dejstvo genotipa 3 hepatitis C virusa, tako da se danas govori o tzv. “virusnoj steatozi jetre”. Obe bolesti spadaju u hronične bolesti jetre, mogu dovesti do pogoršanja bolesti i nastanka ciroze jetre, a za hepatitis C virus je dokazan i onkogeni potencijal, te nastanak hepatocelularnog carcinoma (HCC). Zbog toga je ciroza jetre uzrokovana hroničnom hepatitis C virusnom infekcijom danas vodeći uzrok transplantacije jetre.

Lečenje hroničnog hepatitisa C još uvek nije dovoljno efikasno, skupo je, nije svima potpuno dostupno, nemamo adekvatnog rešenja za pacijente koji nisu dobro odgovorili na antivirusnu terapiju, gde bolest dalje progredira u cirozu sa svim njenim posledicama. Uspeh lečenja je umanjen i pojavom steatoze jetre koja se često javlja udruženo sa hroničnim C hepatitisom. Još uvek ne postoji vakcina protiv hepatitis C virusne infekcije, a bolest se nedovoljno rano otkiva, kada bi lečenje bilo uspešnije. Ni hepatitis C infekcija ni steatoza jetre u početku bolesti ne daju često gotovo nikakve simptome, i tek se slučajnim pregledima otkrivaju. Zbog toga se medicinska pažnja usmerava na prosvetavanje, prevenciju nastanka obe bolesti, njihovo što ranije otkrivanje. Takođe se poklanja velika pažnja prediktorima dobrog virusološkog odgovora u lečenju hroničnog hepatitisa C, kao i naporima usmerenim na zbrinjavanje pacijenata koji nisu dobro odgovorili na antivirusnu terapiju, tzv. “non-responderima” i “relapserima”.

Hronični C hepatitis se tako u poslednje vreme smatra vrlo ozbiljnom bolešću, a više se ni steatoza jetre ne može smatrati benignim stanjem i ignorisati. Steatoza jetre udružena sa HCC se mora posmatrati kao kofaktor koji može dovesti do pogoršanja i

pojave teže forme bolesti jetre, koja može učiniti ishod lečenja neizvesnijim, a samo lečenje težim. Lečenjem i izlečenjem jedne bolesti, povoljno se utiče na ishod lečenja druge bolesti, mada se za efikasnom terapijom još uvek traga.

Zbog svega navedenog i njihovog asimptomatskog, klinički nemog početka bolesti, obe se ponekad nazivaju “tihim ubicama”, jer kasnim otkrivanjem i nedovoljno efikasnim lečenjem mogu dovesti do pomenutih teških posledica po zdravlje. Ovaj doktorat je pokušaj da se rasvetli uloga steatoze jetre u hroničnoj hepatitis C virusnoj infekciji te da se poboljša uspeh lečenja, od čega će najviše koristiti imati naši pacijenti, ali i lekari i država.



Slika 1. Model hepatitis C virusa

(<http://www.nikadheroin.com/index.php/forum?func=view&catid=28&id=948>)

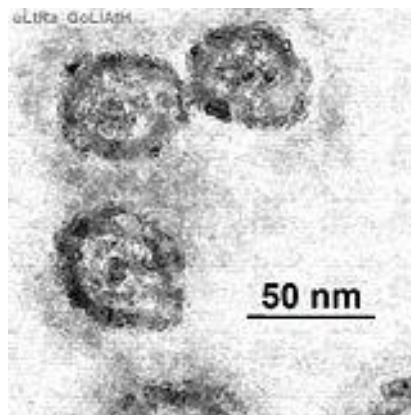
1.2. HEPATITIS „C“

1.2.1. Definicija

Hepatitis C je zapaljensko oboljenje jetre izazvano hepatitis C virusom (HCV). Ranije je nazivan "Non-A, non-B hepatitis", otkrićem seroloških testova za hepatitis A virus (HAV) i hepatitis B virus (HBV) tokom 70-tih godina XX v, primećeno je postojanje hepatitisa koji je najčešće bio povezan sa transfuzijama, a nije bio izazvan ni sa hepatitis A ni B virusom (1). Do tada su samo dva virusa hepatitisa bila identifikovana, virus hepatitisa A ("virus zarazne žutice") i virus hepatitisa B ("virus serumskog hepatitisa") (2). Od 1975.g se počinje govoriti o trećem virusu hepatitisa koji izaziva postransfuzioni hepatitis (3). 1989.g. je identifikovan genom ovog novog virusa (4), te se ubrzo potom počinje govoriti i o trećem virusu hepatitisa- hepatitis C virusu (5). Od tada se razvijaju i uvode u kliničku praksu serološki testovi za hepatitis C, te se od 1991.godine u većini zemalja uvodi testiranje na anti-HCV antitela (6,7), koje se u našoj zemlji počelo rutinski primenjivati krajem 1994.godine (8).

1.2.2. Etiologija

Hepatitis C izaziva virus hepatitisa C, koji je mali, sferičan, jednolančani RNK virus roda Hepacivirus (od grčke reči heptos, jetra), član porodice Flaviviridae (9).



Slika 2. HCV viđen elektronskim mikroskopom

(<http://www.thenakedscientists.com/HTML/content/interviews/interview/1149/>)

Izučavanjem HCV genoma je utvrđeno da on sadrži jednostruki lanac ribonukleinske kiseline (RNK) sastavljen od 9600 nukleotida koji služe kao šablon za kodiranje (prepisivanje) i formiranje strukturnih i nestrukturnih proteina i enzima virusa, koji su neophodni za replikaciju i formiranje viriona. Oni su predstavljeni sa deset peptidnih lanaca, tri za sintezu strukturnih proteina HCV (jedan za jezgro virusa-core-C i dva za glikoproteine omotača virusa E1 i E2), jedan za sintezu jonskih kanala (p7) i šest za sintezu nestrukturnih protein (NS2-NS5B). Strukturni protein su smešteni na 5' kraju a nestrukturni na 3' kraju genoma (10,11).

Slično kao i kod drugih RNA virusa, istaknuta odlika HCV je ogromna genetska promenljivost (varijabilnost) koja dovodi do mutacija virusa i pojave novih kvazispesijesa. Na taj način se omogućava izbegavanje imunološkog odgovora domaćina, olakšava nastanak hroničnog hepatitisa, umanjuje efikasnost antivirusnih lekova i otežava pronalaženje uspešne

vakcine. Za hipervarijabilni region genoma HCV se smatra region E1 i E2 koji kodira protein omotača virusa (12).

Na osnovu analize genomskih sekvenci HCV definisano je šest genotipova HCV koji su označeni arapskim brojevima od 1 do 6, svaki od njih ima svoje podtipove označe malim latiničnim slovima a,b,c, a unutar istog podtipa postoje izolati u okviru kojih može postojati više kvazivrsta (13). Utvrđivanje genotipa ima epidemiološki i klinički značaj. Neki genotipovi HCV-a se više sreću u svim delovima sveta (1a,1b,2a,2b), dok se neki pojavljuju samo u specifičnim regijama (4a,5a,6a). U evropskim zemljama pa tako i u našoj, dominira genotip 1 i 3 (14,15).

Klinički značaj pojedinih genotipova HCV ogleda se u tome što se pojedini genotipovi povezuju sa razvojem teže forme bolesti i sa bržom progresijom bolesti, kao što je to slučaj sa genotipom 1, posebno 1b (12), što je dokazano i na našem uzorku (15). Genotip 3 HCV se povezuje sa nastankom steatoze jetre i smatra da se da protein jezgra (core protein) ovog genotipa ima direktno steatogeno dejstvo na hepatocite (12,16). Teže lečenje hroničnog hepatitisa C izazvanog genotipom 1 nego genotipa 2 i 3 se ogleda i u tome što se standardna kombinovana antivirusna terapija kod njega primenjuje 48 meseci i ima manji uspeh lečenja nego lečenje kod genotipa 2,3 koje traje 24 meseca (17). Takođe se počelo izveštavati o onkogenom svojstvu pojedinih proteina HCV genoma koji mogu biti uključeni u proces hepatične onkogeneze (10).

1.2.3. Životni ciklus HCV

Životni ciklus hepatitisa C virusa se prema sadašnjim saznanjima odvija na sledeći način: HCV cirkuliše u krvi domaćina kao lipo-viro-partikula tj. LDL/HCV čestica, koju čine LDL

lipidi iz seruma domaćina i sam virus hepatitis C. Tako dolaze do površine hepatocita gde dolazi do adsorpcije na površinu hepatocita pomoću LDL komponente koja se vezuje za LDL receptor, istovremeno dovodeći do međusobne reakcije između virusnih glikoproteina na površini virusne čestice sa ćelijskim glikoaminoglikozidima na njenoj površini. To je inicijalni korak koji dovodi do posledične međusobne reakcije HCV sa još dva receptora na površini hepatocita – scavenger receptorom B tip I i sa tetraspanin receptorom CD81. Sledeći korak je endocitoza virusne partikule započete posredstvom dva ćelijska enzima na površini hepatocita (klaudin-1 i okcludin) i okončane sa enzimom klatrinom u citoplazmi hepatocita. Potom dolazi do acidifikacije koja dovodi do topljenja (fusion) glikoproteinskog omotača virusa i endozomske membrane, te oslobađanja virusnog genoma HCV u citoplazmu hepatocita (uncoating). Tako neobučan, razotkriven genom HCV-a dolazi do endoplazmatskog retikuluma gde se odvija translacija i RNA replikacija, kojom se sintetizuju proteini i glikoproteini novog virusa i novi HCV genom, stvarajući novi infektivni virion (sjedinjavanje i pakovanje) u endoplazmatskom retikulumu hepatocita. U sledećoj fazi dolazi do sazrevanja virusne partikule (maturacija), posle koje se ona spaja sa VLDL i kao lipo-virusna čestica se oslobađa iz hepatocita (oslobađanje viriona) (18,19).

1.2.4.HCV patogeneza

Patogeneza hepatitis C virusne infekcije je stalan predmet izučavanja, ali još uvek nije do kraja rasvetljena. Prema dosadašnjim saznanjima oštećenje jetre tokom hepatitis C virusne infekcije je posredovano imunološkim odgovorom na infekciju, mada se u skorije vreme počelo izveštavati i o direktnom citopatogenom dejstvu virusa, odnosno direktnom učešću

HCV proteina u patogenezi bolesti (20,21,22). U poslednje vreme se sve više govori o ulozi oksidativnog stresa i značaju apoptoze u nastanku hronične hepatitis C virusne infekcije, razvoju fibroze i onkogenezi (23,24). Sažeto, patogeneza hepatitis C virusne infekcije se može prikazati na sledeći način: HCV infekcija izaziva jak HCV-specifičan ćelijski imunološki odgovor citotoksičnih T-Ly tokom akutne faze bolesti koji je odgovoran za oštećenje jetre u akutnoj fazi bolesti i koji može dovesti do eliminacije virusa i ozdravljenja. U većini slučajeva međutim, ne dolazi do eliminacije virusa već prelaska u hroničnu fazu bolesti, koja nastaje zbog nedovoljno efikasnog imunološkog odgovora. Na taj način dolazi do razvoja apoptoze posredovane adaptivnim imunološkim odgovorom domaćina na hepatocite inficirane HCV-om, koja u uslovima hroničnog oksidativnog stresa stimuliše Kupferove i zvezdaste ćelije (stellate cells) na produkciju profibrogenetičkog citokina TGF- β (transforming growth factor- β), deponovanje kolagena, nastanak fibroze (18,23,24).

Da HCV može u određenim uslovima imati direktno citopatogeno dejstvo dokazuju radovi u kojima je utvrđena uloga pojedinih proteina virusa (najčešće HCV core proteina) u nastanku insulinske rezistencije, steatoze jetre, diabetes mellitusa i HCC-a (25,26,27,28).

1.2.5.Epidemiologija HCV infekcije

Hepatitis C je bolest sa značajnim globalnim uticajem, raspostranjen je širom celog sveta, prevalence ima značajne regionalne razlike, ali se procenjuje da je 2,2-3% svetske populacije zaraženo hepatitis C virusom, što iznosi oko 130-170 miliona ljudi (29,30). Podaci iz 22 evropske zemlje obuhvaćene istraživanjem Svetske zdravstvene organizacije (u kojoj

nema Srbije) pokazuje da 1,1-1,3% stanovništva tih zemalja inficirano virusom hepatitis C, što iznosi oko 7,3-8,8 miliona ljudi (31).

Podaci za prevalencu HCV infekcije u Srbiji ne postoje, ali se procenjuje da je inficirano oko 1% stanovništva (usmeno saopštenje).

Kako je hepatitis C krvno transmisivna bolest, najveći broj inficiranih u razvijenim zemljama pripada grupi intravenskih zavisnika od opijata, gde prevalenca prelazi 90% (32,33). Potom grupa postranzfuziono nastalih hepatitisa C kod osoba koje su primale transfuzije krvi ili krve derivate pre uvođenja obaveznog testiranja dobrovoljnih davalaca na anti-HCV antitela, potom dolazi seksualni put kod promiskuitetnih osoba koje upražnjavaju seks bez zaštite. Moguć je i jatrogeni prenos infekcije preko medicinskih instrumenata i aparata kao što je to kod osoba na hemodijalizi (2,6-22,9%)(34), prilikom stomatoloških, hirurških i ginekoloških intervencija i operacija, gastroenteroloških endoskopskih intervencija, prenos preko transplantiranih organa, prenos preko tetovaže, pirsinga i preko predmeta zajedničke upotrebe (makazice, brijачi, četkice za zube). Vertikalna transmisija sa majke na novorođenče je moguća u 4-7% (32,35). Prevalence HCV infekcije među zdravstvenim radnicima se ne razlikuje od one u opštoj populaciji, te se smatra da je nozokomijalan način prenosa infekcije sa bolesnika na osoblje mali (33,34,36)

U poslednjih desetak godina epidemiologija hepatitis C virusne infekcije se u zemljama Evrope menja. Smanjuje se broj novooinficiranih osoba, a starosna granica obolelih se pomera prema starijoj dobi. Na ovu promenu utiče eradikacija posttranzfuzionog hepatitisa uvođenjem obaveznog testiranja dobrovoljnih davalaca krvi, zdravstveno prosvetavanje o prevenciji krvno-transmisivnih bolesti izazvano pojavom AIDS-a tokom devedesetih godina i

primena efikasnije terapije protiv hroničnog C hepatitisa koja produžava životni vek inficiranih. Sve to zajedno je dovelo do toga da imamo sve više HCV inficiranih bolesnika sa znacima uznapredovale bolesti tj. sa znacima ciroze jetre i sa pojavom HCC-a . Njihov broj stalno raste i vrh se u razvijenim zemljama očekuje posle 2020. god.(37).

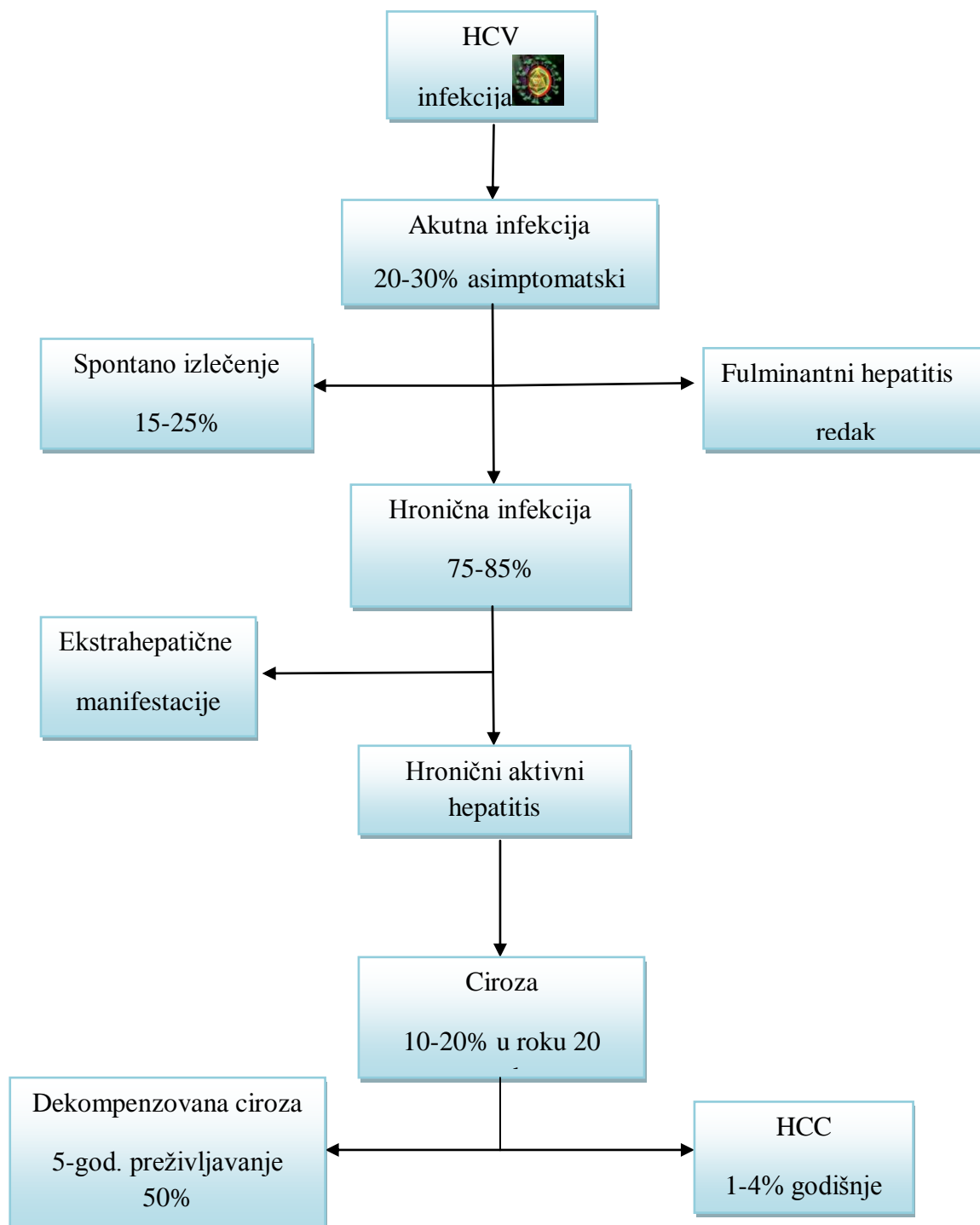
1.2.6.Klinička slika i tok hepatitis C virusne infekcije

Nakon inkubacije koja prosečno iznosi oko 6-7 nedelja (oko 50 dana) dolazi do razvoja akutne faze bolesti-**akutnog hepatitisa** , koji protiče neprimetno u oko 75-80% slučajeva. Najčešće akutna faza bolesti ostaje neotkrivena jer nema simptoma, a ako se jave simptomi obično su nespecifični: malaksalost, gubitak apetita, a ređe bol pod desnim rebarnim lukom i žutica. Akutni hepatitis je praćen patološkim laboratorijskim nalazima testova iz biohemijskog sindroma jetre, koji se evidentiraju samo ako se misli na ovu bolest. Povišena aktivnost aminotransferaza , alanin aminotransferaze (ALT) i aspartat aminotransferaze (AST) deset ili više puta iznad granice referentnih vrednosti, javlja se pre pojave simptoma 2-8 nedelja nakon ekspozicije, HCV RNA postaje detektabilna 1-2 nedelje nakon ekspozicije, a anti- HCV antitela su detektabilna neposredno nakon pojave simptoma, 1-3 meseca nakon ekspozicije (38,39,40). U svakodnevnoj praksi najščešće se u dijagnostici koristi merenje aktivnosti aminotransferaza i prisustvo anti-HCV antitela. Tok akutne faze bolesti je blag, neprimetan. Fulminantni hepatitis se veoma retko javlja. Ekstrahepatične manifestacije hepatitis C virusne infekcije se u akutnoj fazi bolesti se retko javljaju. U oko 20% pacijenata sa akutnim hepatitisom dolazi do gubitka HCV RNA koje znači izlečenje. Najčešće dolazi do razvoja hroničnog hepatitis (19,40).

Hronični hepatitis je najčešća manifestacija hepatitis C virusne infekcije, praćen je povišenom aktivnošću aminotransferaza duže od 6 meseci. Hronični hepatitis nastaje u oko 75-85% slučajeva hepatitis C virusne infekcije, praćen je perzistentnim prisustvom HCV RNA u serumu i tipičnim fluktuiranjem aktivnosti aminotransferaza, nekoliko puta iznad normalnih vrednosti. Kada se jednom hronični hepatitis C pojavi, spontano izlječenje se vrlo retko dešava. Hronični hepatitis C može proticati asimptomatski ili sa nespecifičnim simptomima kao što su umor, slabost, malaksalost, ređe bol pod desnim rebarnim lukom i još ređe žutica (19,38,39).

U ovoj fazi bolesti su česte ekstrahepatalne manifestacije bolesti, tako da se mogu javiti artralgije, mialgije, kožne promene, simptomi od strane oštećenja bubrega, poremećaja rada štitne žlezde, simptomi šećerne bolesti, itd. Često su one prva i najizraženija manifestacija hronične HCV infekcije pomoću kojih se ova infekcija otkriva (19).

Često se hronični hepatitis C otkriva u poodmakloj fazi bolesti, kada se manifestuje simptomima i znacima **ciroze jetre**, praćenih njenom dekompenzacijom, čiji se simptomi i znaci ne razlikuju od ciroza druge etiologije. Ciroza ne nastaje obavezno kod svih osoba sa hroničnim C hepatitisom. Na nastanak ciroze utiču virusni faktori i faktori domaćina, a smatra se da oko 20-30% hronično inficiranih osoba razvije cirozu jetre u period od 20-30 godina (19,40). Sa nastankom ciroze javljaju se komplikacije, dekompenzacija ili razvoj hepatocelularnog karcinoma (HCC) (19).



Shema 1. Prirodni tok HCV infekcije

Riziko faktori koji doprinose napredovanju bolesti i utiču na **pojačani razvoj fibroze** su muški pol, starost veća od 40 godina u momentu sticanja infekcije, dužina trajanja infekcije, konzumacija alkohola , veći stepen nekroinflamatorne aktivnosti, koinfekcija sa humanim imunodeficijntnim virusom (HIV) ili hepatitis B virusom (HBV) i postojanje komorbiditeta (udruženih bolesti) kao što su imunosupresija, diabetes mellitus, gojaznost, steatoza jetre i pušenje(40,41,42). Smatra se da nivo viremije i genotip HCV-a ne utiče značajno na stepen progresije bolesti, mada koinfekcija sa više genotipova može imati nepovoljniji ishod nego infekcija jednim genotipom (19,43).

Od kada se u poslednjoj deceniji zapaža nagli porast incidence **hepatocelularnog karcinoma** u svetu pa i kod nas, proučavanje ove pojave dovodi hepatitis C virusnu infekciju u žižu interesovanja, jer je zapažena uzročna povezanost između ove dve pojave. Hronična hepatitis C virusna infekcija se smatra jednim od najvažnijih rizikofaktora za razvoj HCC, epidemiološke studije pokazuju da do 70% pacijenata sa HCC-om ima pozitivna anti-HCV antitela u serumu (44), da svake godine 4-5% pacijenata sa hroničnim C hepatitisom razvije HCC , odnosno da HCV infekcija povećava rizik za razvoj HCC oko 17 puta u odnosu na zdrave osobe (45). Zbog toga se sve više pažnje obraća na što ranije otkrivanje i lečenje hepatocelularnog karcinoma, proučavaju se mehanizmi karcinogeneze HCV infekcije i sprečava nastanak HCC-a ranim otkrivanjem i efikasnijim lečenjem hronične HCV infekcije. Smatra se da u mehanizmu karcinogeneze hronične HCV infekcije glavnu ulogu imaju nekoliko HCV

proteina među kojima je najvažniji protein jezgra HCV, ali se sve veća uloga pridaje oksidativnom stresu, slobodnim radikalima, steatozi i fibrozi jetre (45,46,47).

1.2.7. Ekstrahepatalne manifestacije hronične HCV infekcije

HCV infekcija nije samo hepatitis, nego se danas smatra da je to sistemska infektivna bolest sa višeorganskim učešćem. HCV infekcija se u svojoj kliničkoj slici odlikuje velikim brojem ekstrahepatičnih manifestacija koje su često prvi, jedini ili najizraženiji klinički znak hroničnog hepatitisa C, te se često preko njih prvi put otkrije hepatitis C virusna infekcija. Prema različitim autorima, smatra se da oko 30-40% ili čak više od 50% pacijenata sa hroničnim C hepatitisom ima ekstrahepatične manifestacije bolesti (48,49,50,51). Zbog toga dokaz o HCV infekciji treba uvek tražiti u nespecifičnim slučajevima umora i u reumatološkim, hematološkim, endokrinološkim i dermatološkim poremećajima. Patogeneza EHM još uvek nije potpuno razjašnjena, smatra se da u osnovi leži HCV limfotropizam, HCV izazvana cirkulišuća autoantitela i mešana krioglobulinemija (48,52,53,54). Ekstrahepatične manifestacije se obično dele prema stepenu povezanosti sa HCV infekcijom na one sa snažnom povezanošću i jasnim patogenetskim mehanizmom, na one gde je povezanost veća nego u kontrolama, ali sa nedovoljno jasnom patogenezom, na one gde ta povezanost treba da se potvrdi i na anegdotska zapažanja (52,53,55).

Najčešće je od EHM hronične hepatitis C virusne infekcije prisutna mešana krioglobulinemija koja se nalazi i do 50% pacijenata, često protiče bez simptoma, a klinički se ispoljava kao sistemski vaskulitis sa kožnim promenama,

glomerulonefritisom, perifernom neuropatijom ili artralgijama (52,55,56). Poslednjih godina su sve više u pažnji endokrini sindromi kao deo EHM , pre svega razvoj insulinske rezistencije, diabetes mellitus tip 2, steatoza jetre i bolesti štitne žlezde.

1.2.8. Dijagnoza HCV infekcije

Dijagnoza hepatitis C virusne infekcije se postavlja na osnovu anamneze, kliničke slike, laboratorijskih nalaza i biopsije jetre . Kako hepatitis C često prolazi asimptomatski, anikterno, ili sa nespecifičnim simptomima kao što su umor, slabost, malaksalost, eventualno bol pod desnim rebarnim lukom, hepatitis C često ostaje nedijagnostikovano ili se otkrije slučajno tokom ispitivanja neke druge bolesti, prilikom rutinskih periodičnih pregleda, na transfuziologiji prilikom dobrovoljnog davanja krvi, itd. Obzirom na hroničan tok bolesti u oko 80% osoba te dalju progresiju ka cirozi, terminalnoj jetrenoj insuficijenciji, HCC-u i smrti, kao i na činjenicu da se bolji rezultati lečenja postižu ukoliko infekcija kraće traje, veoma je važno postaviti dijagnozu ove bolesti na vreme. Zato se posebna pažnja obraća na testiranje tzv. - rizičnih grupa za HCV infekciju, na testiranje svih pacijenata sa povišenim transaminazama, pacijenata sa hroničnom bolešću jetre nejasne etiologije. U rizične grupe za transmisiju HCV infekcije spadaju intravenski zavisnici od opijata, promiskuitetne osobe koje upražnjavaju sex bez zaštite, primaoci transfuzija krvi pre 1994.g., primaoci transplantiranih organa, osobe sa tetovažama, pirsingom, medicinsko osoblje koje radi sa pacijentima obolelim od C

hepatitisa, deca majki obolelih od hepatitisa C. Njih treba testirati na hepatitis C virusnu infekciju i bez pojave simptoma vezanih za hepatitis (57).

Tabela 1. Rizične grupe za HCV infekciju

Rizične grupe za HCV infekciju

- primaoci transfuzija pre 1994.god.
- pacijenti sa hemofilijom
- pacijenti na hemodijalizi
- i.v. narkomani
- deca anti HCV pozitivnih majki
- seksualni partneri anti HCV pozitivnih osoba
- promiskuitetne osobe
- donori tkiva i organa
- HIV pozitivne osobe
- osobe sa tetovažom i pircingom
- zatvorenici
- zdravstveni radnici koji dolaze u kontakt sa krvlju

Od laboratorijski nalaza u dijagnostici HCV infekcije najznačajnije je određivanje nivoa aminotferaza u serumu obolele osobe, čija visina aktivnosti odražava stepen nekroinflamatorne aktivnosti u jetri. Određuju se ALT i AST, koje su povišene 10 ili više puta iznad referentnih vrednosti kod akutne, a nekoliko puta kod hronične forme bolesti.

Za dijagnozu HCV infekcije se koriste serološki testovi za dokazivanje antitela na virus hepatitisa C (**anti-HCV antitela**) Elisa tehnikom i molekularni testovi za dokazivanje hepatitis C virusne ribonukleinske kiseline PCR tehnologijom. Serološki test

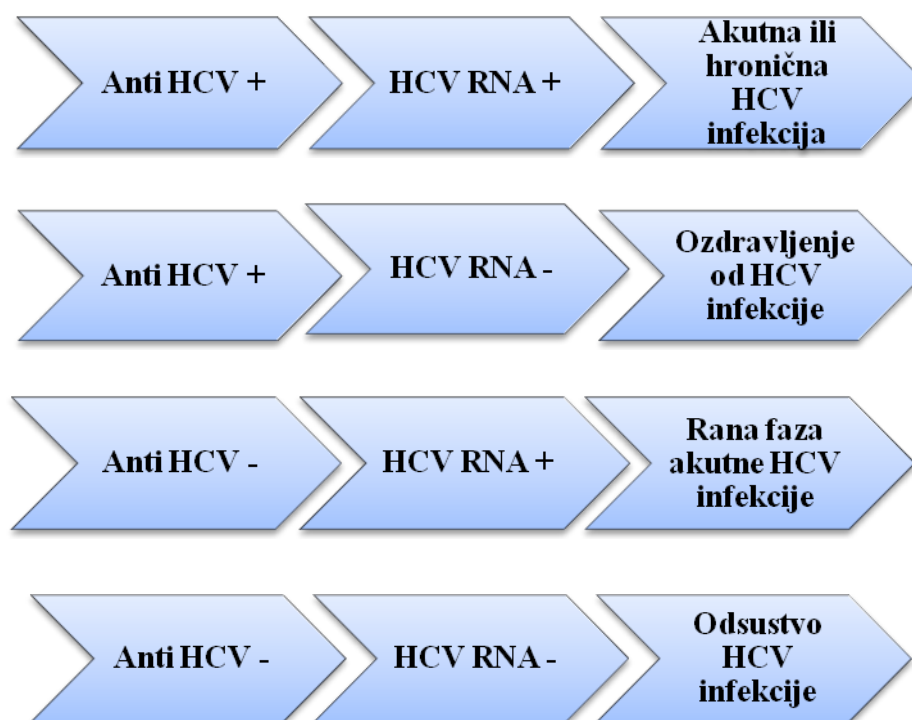
sa trećom generacijom Elisa testova ima senzitivnost preko 99% i pozitivna anti-HCV antitela su dokaz za postojanje HCV infekcije. Pozitivan rezultat serološkog pregleda zahteva određivanje **HCV RNA**, da bi se razlikovale osobe sa preležanim i izlečenim C hepatitisom (imaju pozitivna anti-HCV antitela, ali su HCV RNA negativni) od onih sa prisutnim C hepatitisom (imaju pozitivna anti-HCV antitela i pozitivnu HCV RNA). Prisutna anti-HCV antitela ostaju doživotno ali ne štite od nove HCV infekcije drugim genotipom. Određivanje genotipa HCV se obavezno vrši pre započinjanja antivirusne terapije, a kvantitativno određivanje viremije hepatitis C virusa merenjem HCV RNA se obavezno radi pre započinjanja, tokom , na kraju i posle završene antivirusne terapije.

Kod **akutne** HCV infekcije još pre pojave simptoma bolesti mogu se dokazati HCV RNA i porast aktivnosti aminotferaza više, a sa ozdravljenjem i nestankom simptoma bolesti, HCV RNA postaje nedetektibilna uz normalizaciju aktivnosti aminotferaza. Anti-HCV antitela postaju detektibilna 6-8 nedelja nakon infekcije i ostaju pozitivna doživotno.

Kod **hronične** HCV infekcije nalazi se povišena aktivnost aminotferaza, nekoliko puta iznad normalnih vrednosti i njene vrednosti fluktuiraju tokom hroničnog toka bolesti, nisu u direktnoj korelaciji sa nivoom nekroinflamatorne aktivnosti u jetri, a povremeno mogu biti i normalne. Anti-HCV antitela su sve vreme pozitivna, retko mogu biti lažno negativna u imunosuprimiranih pacijenata (HIV, maligne bolesti) i kod osoba na hemodijalizi. Kod svake osobe kod kojih se nađu prisutna anti-HCV antitela treba uraditi PCR HCV RNA test, da bi razjasnili da li se radi o hroničnom C hepatitisu ili rekonvalescenciji odnosno preležanom akutnom C hepatitisu (19).

Često je teško razlikovati **akutni od hroničnog C** hepatitisa. Kod sumnje na akutnu HCV infekciju gde bi aktivnost aminotferaza trebala biti veća od deset puta

iznad normalnih vrednosti, pacijenta bi trebalo testirati i na anti-HCV antitela i na HCV RNA. Testiranje samo na anti-HCV antitela nije dovoljno pošto se ona razvijaju 6-8 nedelja nakon transmisije virusa i ostaju prisutna doživotno, dok HCV RNA postaje detektabilna već nekoliko dana nakon ekspozicije i nestaje nakon ozdravljenja. Kada je HCV RNA pozitivna u seronegativnih pacijenata (anti-HCV negativna) najverovatnije se radi o akutnom C hepatitisu. Kada pacijent ima i pozitivnu HCV RNA i pozitivna anti-HCV antitela može se raditi i o akutnom i o hroničnom C hepatitisu. Određivanje anti-HCV antitela klase IgM u C virusnom hepatitisu nije od koristi (19,57).



Shema 2. Tumačenje HCV testova

1.2.9. Biopsija jetre

Uprkos razvoju neinvazivnih dijagnostičkih testova fibroze jetre (fibrosken i fibrotestovi), biopsija jetre važi i danas kao zlatni standard za postavljanje dijagnoze bolesti jetre, posebno intenziteta nekroinflamatornih procesa i stepena fibroze (57,58,59,60). Biopsija jetra kod obolelih sa hroničnom hepatitis C virusnom infekcijom ima za cilj postavljanje patohistološke dijagnoze, određivanje prognoze i značaj u određivanju načina lečenja bolesti jetre (61).

Dijagnoza hroničnih virusnih hepatitisa se može bazirati na biohemijskim i virusološkim analizama, te je postavljanje dijagnoze bolesti jetre biopsijom važnije za autoimuni hepatitis, masnu bolest jetre, hemohromatozu, Wilsonovu bolest, primarnu bilijarnu ciroza, kriptogene ciroze, granulomatozne bolesti jetre, infiltrativne i fokalne bolesti jetre i tzv. "overlap" sindrome, gde imamo preklapanje kliničkih i laboratorijskih nalaza dve ili više bolesti.

U kliničkoj praksi se primenjuju dve vrste biopsije jetre, slepa i ciljane biopsija. Slepa se primenjuje kod difuznih parenhimskih bolesti jetre, gde izvođač biopsije ne vidi i ne prati golim okom ulazak igle u parenhim jetre, dok se kod ciljane biopsije ulazak igle prati ultrazvukom (ultrazvukom vođena biopsija).

Što se same tehnike biopsije jetre tiče, u primeni su perkutana biopsija jetre (iglom kroz kožu), transjugularna biopsija jetre (kateterom kroz jugularnu venu do jetre) i laparoskopna biopsija jetre (laparoskopom se dolazi do jetre i uzima biopsija sa određenog dela jetre). Dva tipa igala za biopsiju jetre su u upotrebi: cutting igle (Tru-Cut, Vim-Silverman) i aspiracione igle (Menghini, Klatzkin, Jamshidi). Prve daju veći uzorak

jetrenog tkiva ali više komplikacija, a druge manji i često fragmentisan uzorak tkiva jetre, ali imaju manje komplikacija.

Za kvalitetnu i što objektivniju patohistološku analizu uzorka jetre dobijenog biopsijom, pogotovo u pogledu prisustva i stepena fibroze, potrebno je ispuniti dva uslova: dobiti kvalitetan uzorak jetrenog tkiva i imati iskusnog patohistologa. Kritičkim pregledom literature smatra se da je za egzaktnu patohistološku analizu hroničnih virusnih hepatitisa adekvatan uzorak jetre dužine 2,0 cm sa najmanje 11 portnih prostora, što iznosi 1/50.000 deo cele jetre (58,62). Zbog neadekvatnog uzorka su moguće greške u interpretaciji patohistološkog nalaza, najčešće se javljaju pri razgraničavanju stadijuma fibroze (npr. F1 od F2 ili F2 od F3).

Poslednje dve decenije se najviše pažnje obraćalo na patohistološku analizu hroničnih virusnih hepatitisa, gde se pojavilo nekoliko numeričkih sistema za ocenjivanje nekroinflamatorne histološke aktivnosti i fibroze u jetri, nazvanih po autorima ili ekspertskoj grupi. Najrasprostranjeniji su Knodell-ov score index, Ishak-ov score, METAVIR score, itd.(19,63).Na taj način se patohistološke promene u jetri kod hroničnih virusnih hepatitisa izražavaju numerički, pojedinačno za svaku odliku koja se analizira. Za nekroinflamatornu aktivnost su to nekroza i inflamacija portnih prostora, periportnih prostora hepatocita i lobulusa, čijim se zbirom (score) patohistološki nalaz svrstava u grupu hroničnog perzistentnog ili hroničnog aktivnog hepatitisa, dok se na osnovu stepena fibroze govori o početnoj ili lakoj, srednje izraženoj ili umerenoj, teškoj ili uznapredovaloj fibrozi i cirozi kao najtežem stepenu i krajnjem ishodu uznapredovale fibroze jetre (63,64).

U novije vreme se javljaju neinvazivni testovi i tehnike za procenu fibroze jetre. Dok se jedne baziraju na određenim serumskim markerima koje ukazuju na nakupljanje ekstracelularnog proteinskog matriksa-kolagena u jetri (tz.surogat markeri), koji se razmatraju pojedinačno ili zbirno preko određenih formula (APRI score, Fibrotest,Fibroindex,itd.), dotle se druge odnose na radiološke (tz.imaging) tehnike koje mere elasticitet tkiva jetre (FibroScan) (19). Biopsija jetre još uvek ne gubi svoju ulogu u dijagnostici hroničnih bolesti jetre, ostaje komplementarna sa neinvazivnim testovima i tehnikama, te racionalnom upotrebom jednih i drugih, može se postaviti egzaktna dijagnoza uz manju mogućnost greške i manji rizik od komplikacija biopsije. U HHC biopsija jetre je neophodna pre uvođenja antivirusne terapije, u slučaju postojanja fibroze terapija se mora što pre primeniti. Pojedini autori smatraju da biopsija jetre kod HHC uzrokovanog HCV genotipa 2 i 3 nije neophodna, obzirom na visoku uspešnost izlečenja (više od 80%) (57,59).

1.2.10.Terapija hepatitisa C

Lečenje hepatitis C virusne infekcije je zbog svoje nedovoljne efikasnosti, brojnih i čestih neželjenih efekata terapije i visokih materijalnih troškova, stalan predmet proučavanja , tema mnogih kliničkih studija, naučnih skupova, sastanaka ekspertske grupe sa donošenjem konsenzus odluka sa terapijskim preporukama. One se odnose na **specifičnu, antivirusnu terapiju**, čiji je cilj eradicacija HCV infekcije, izlečenje HHC i sprečavanje komplikacija bolesti kao što je ciroze jetre i hepatocelularni karcinom. Uspeh terapije se ocenjuje postizanjem stabilnog virusološkog odgovora (SVR-sustained virological response) koja označava nedetektibilnu HCV RNA 6 meseci posle završene

terapije. Smatra se da je pacijent sa postignutim stabilnim virusološkim odgovorom praktično izlečen, jer se u ovih pacijenata u više od 99% slučajeva takav nalaz vremenski održava (67,68). Postizanjem SVR-a se postiže ne samo eliminacija HCV-a nego i poboljšanje patohistološke aktivnosti u jetri (uglavnom nekroinflamatorne aktivnosti, a često i fibroze) i normalizacija funkcije jetre merene laboratorijskim testovima biohemijskog sindroma jetre.

Dinamičan razvoj novih antivirusnih lekova omogućio je bolji uspeh lečenja i bolje podnošenje terapije. Najpre je u lečenju primenjivan interferon-alfa tri puta nedeljno sa postizanjem SVR-a tek kod nekolicine pacijenata, zatim kombinovana terapija interferonom i ribavirinom koja je dala nešto bolje rezultate, a od 2000. godine, primenom pegilovanog interferona jednom nedeljno u kombinaciji sa ribavirinom, SVR je postignut u preko 60% pacijenata ukupno, a kod posebno izabranih pacijenata i preko 80% (69).

Pegilovani interferon-alfa je dobijen posebnim sintetskim postupkom dodavanja polietilen glikol lanca interferonu na koji način mu je produžen poluzivot, primenjuje se jednom nedeljno uz održavanje stabilnog nivoa u serumu. U opticaju su dva oblika pegilovanog interferona: pegilovani interferon-alfa2a (PEGASYS®, Hofmann La-Roche, Švajcarska) i pegilovani interferon-alfa2b (PEGINTRON®, Shering-Plough, MSD, USA). Pegasys se nalazi u obliku ampule od 135 i 180 µg, a Pegintron u obliku penkale od 60,80,100,120 i 140 µg. Oba se kao injekcija primenjuje potkožno tj. subkutano (s.c.). Pegasys se daje u fiksnoj dozi od 180µg s.c. dok se Pegintron daje u dozi od 1,5 µg na kg telesne težine. Dužina trajanja terapije zavisi od genotipa virusa, kod HCV genotipa 1,4,5 i 6 48 nedelja, kod genotipa 2 i 3 lečenje traje 24 nedelje. Oba leka su

podjednako efikasna, postoje studije koje ukazuju da je pegilovani interferon-alfa2a nešto efikasniji (70,71,72,73,74), kao i one koje ne nalaze bitne razlike u efikasnosti (75,76,77,78).

Ribavirin – antivirusni lek iz grupe nukleozida, primenjuje se u obliku tableta od 200 mg koje se doziraju na 12 sati svakodnevno. U prometu je ribavirin dva proizvođača, COPEGUS® (Hofmann La-Roche) koji se dozira u odnosu na genotip i telesnu težinu veću ili manju od 75 kg i REBETOL® (Merck Sharp & Dohme) koji se dozira samo u odnosu na telesnu težinu.

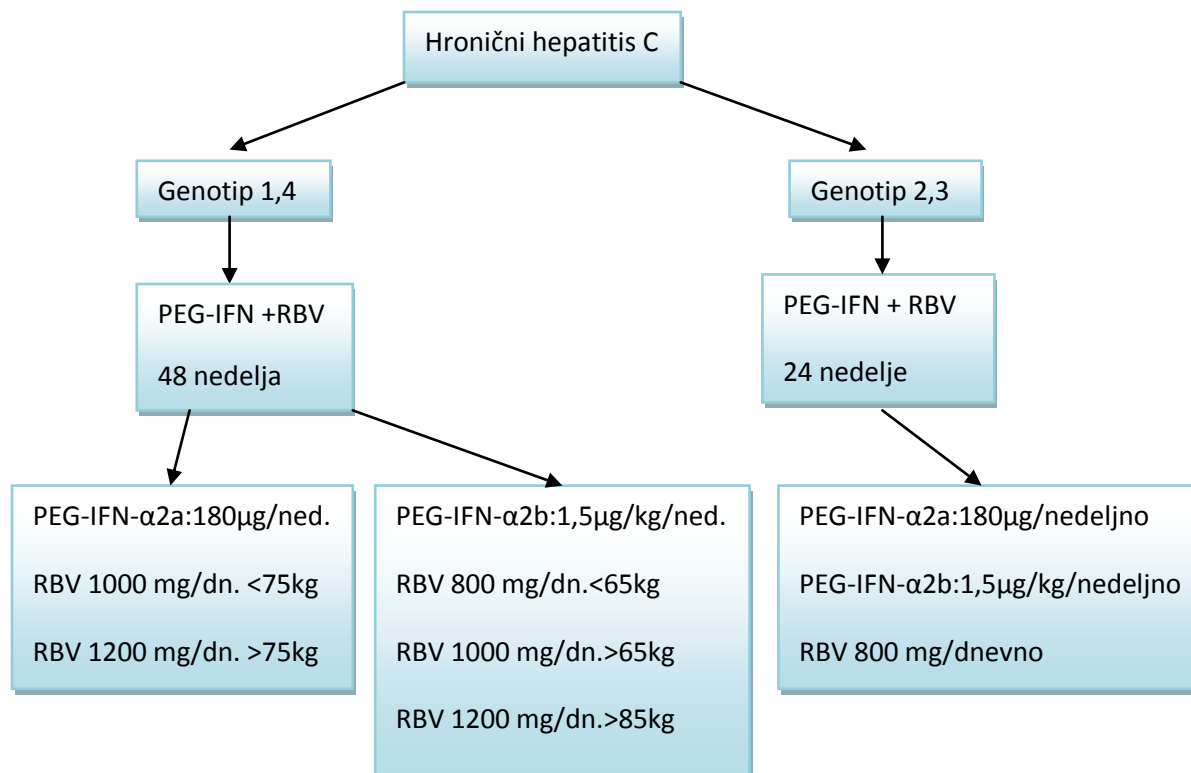
Uspeh lečenja se proverava merenjem hepatitis C virusne RNK u serumu PCR metodom u određenim periodima- nakon 4, 12,24 i 48 nedelja od započete terapije i šest meseci posle završetka antivirusne terapije. Nemerljiva RNK hepatitis C virusa (PCR HCV RNA negativan) nakon 4 nedelje lečenja označava postizanje rapidnog(brzog) virusološkog odgovora (RVR) , nemerljiva PCR HCV RNA nakon 12 nedelja lečenja označava postizanje ranog virusološkog odgovora (EVR)) Ova dva nalaza su pokazatelji (prediktori) povoljnog virusološkog odgovora tj eliminacije virusa i izlečenja. Nemerljiva hepatitis C virusna RNA na kraju lečenja u 24.-toj ili 48.-oj nedelji (EOT)) označava postizanje dobrog virusološkog odgovora na kraju terapije, a šest meseci od završenog lečenja da je postignut stabilan virusološki odgovor, tj. da je lečenje bilo uspešno i da je dovelo do eliminacije HCV (SVR).

1.2.10.1. Lečenje akutnog hepatitisa C

Glavni cilj lečenja akutnog C hepatitisa je prevencija perzistiranja HCV tj. sprečavanja razvoja hroničnog hepatitisa koji može nastati u do 85% nelečenih slučajeva. Rano lečenje HCV infekcije tj. u akutnoj fazi bolesti je veoma važno za eradikaciju virusa i trebalo bi antivirusna terapiju primeniti u akutnoj fazi bolesti, ali u akutnoj fazi bolest HCV infekcija je najčešće asimptomatska i ostaje neprepoznata. Ako se dijagnostikuje akutni hepatitis C, najbolje je antivirusnu terapiju započeti posle 12-te nedelje bolesti, a do tada se bolest opservira u pravcu moguće spontane virusne eliminacije. Primenjuje se monoterapija pegilovanim interferonom alfa u uobičajenim dozama. Ovako primenjena terapija u trajanju od 24 nedelje dovodi do postizanja SVR-a i eliminacije HCV virusa u oko 82,5-91% slučajeva (69,79).

1.2.10.2. Lečenje hroničnog hepatitisa C

Glavni cilj lečenja HHC je eradikacija HCV. Lečenje HHC se zasniva na kombinovanoj terapiji dva antivirusna/ imunomodulatorna leka, pegilovanog interferona-alfa i ribavirina. Ribavirin u kombinaciji sa pegilovanim interferonom alfa-2a (Copegus®) se dozira prema genotipu HCV i telesnoj težini, pa tako ako se radi o infekciji izazvanoj genotipom 1 ili 4 HCV, daje se 1000 mg dnevno za osobe lakše od 75 kg, a 1200 mg dnevno za osobe koje imaju 75 ili više kg, dok je za infekciju izazvanu genotipom 2 ili 3 HCV doza fiksna i iznosi 800 mg dnevno bez obzira na tel.težinu. Ako se ribavirin primenjuje u kombinaciji sa pegilovanim interferonom alfa-2b (Rebetol®) onda je doziranje isključivo prema telesnoj težini i iznosi 800 mg za osobe sa tel.težinom do 65 kg, 1000 mg za osobe sa 66-80 kg, 1200 mg za osobe sa 81-105 kg i 1400 mg za osobe teže od 105 kg (69,80).



Shema 3. Standardna terapija hroničnog hepatitisa C

Zbog nedovoljne efikasnosti, čestih nusfektata i skupoće ove terapije, sve se više proučavaju prediktori (pokazatelji) povoljnog virusološkog odgovora, kako bi se kod svakog kandidata za antivirusnu terapiju oni analizirali i naj tačnije odabrali pacijenti koji imaju veće šanse za postizanje SVR-a, odnosno izlječenje. **Prediktori povoljnog virusološkog odgovora** su prema većini autora bela rasa, mlađi uzrast pacijenta (do 40 god), ženski pol, BMI \leq 25, nizak nivo GGT-a, (uloga nivoa ALT-a kontroverzna), nizak nivo feritina u serumu, odsustvo insulinske rezistencije, odsustvo ciroze i izražene fibroze (F:3,4), odsustvo steatoze, odsustvo depoa Fe u jetri, genotip HCV 2,3, niska viremija

HCV (<600.000-800.000 IU/ml) i genotip koji domaćina IL28B (80,81,82,84,85). Takođe je povoljno za uspeh terapije odsustvo komorbiditeta kao što su koinfekcija hepatitisom B, HIV-om, odsustvo dijabetes melitusa, hronične bubrežne insuficijencije, itd

U poslednje vreme se sve više pažnje obraća na značaj praćenja virusološkog odgovora u 4.-toj, 12.-te i 24.-te nedelje lečenja tj. **odgovorom vođenu terapije**, gde se lečenje prekida, skraćuje ili produžava zavisno od virusološkog odgovora, genotipa HCV i viremije. Kod obolelih od HHC genotip 1 ako nije postignut brzi virusološki odgovor terapija se produžava na 72 nedelje, a skraćuje na 24 nedelje kod niske bazalne viremije i brzog virusološkog odgovora (19,89,90).

Sa ciljem da se poboljša uspeh antivirusne terapije primenjuje se strategija **individualizacija i optimalizacije terapije**, tako što se terapija praktično kroji tj. prilagođava svakom pacijentu ponaosob poštujući navedene preporuke, a uzimajući u obzir individualne karakteristike svakog pacijenta. Nastoji se monitorisanjem virusološkog odgovora optimizirati dužina trajanja lečenja, na taj način što bi se u pojedinim slučajevima skratila, a u drugim produžila dužina trajanja lečenja, uzimajući u obzir i baseline karakteristike i domaćina i virusa.. Smatra se da je za uspeh terapije veoma važna i adherenca (privrženost, pridržavanje) bolesnika terapiji, te da je postignuta dobra adherencija ako je pacijent primio više od 80% planirane doze pegilovanog interferona, više od 80% planirane doze ribavirina i koji je primio terapiju u periodu većem od 80% planirane dužine trajanja lečenje („pravilo 80/80/80“)(91). Takođe je pokazano da kumulativna doza ribavirina mora biti veća od 60% da bi se postigao SVR (92). Zbog svega navedenog veoma je važna motivacija pacijenta za

lečenje. Ona se postiže strpljivim razgovorom sa pacijentom pre i za vreme terapije, objašnjavanje ciljeva lečenja, ukazivanje na mogućnost neželjenih efekata, njihovo razumevanje i rešavanje.

1.2.10.3. Neželjeni efekti terapije

Opisana kombinovana antivirusna terapija za lečenje HHC ima brojne i česte nuzefekte, kako od strane pegilovanog interferona tako i od strane ribavirina. Zbog njih je često ugrožen povoljan ishod lečenja, jer se doze lekova moraju smanjivati, ponekad privremeno i obustaviti pa čak i prekinuti terapija, one utiču na smanjenje pridržavanja terapiji, smanjuju motivaciju pacijenta za lečenje, iziskuju dodatne troškove lečenja i traže dodatne mentalne i psihičke napore od ordinirajućeg lekara u sagledavanju i objektiviziranju bolesnikovih tegoba koji bi mogli imati veze sa antivirusnom terapijom. Veoma je važno ove neželjene efekte terapije na vreme prepoznati pa čak i pre njihove pojave pacijenta upozoriti na njih, jer na taj način se mogu ublažiti i lakše rešiti.

Neželjeni efekti od strane interferona/pegilovanog interferona se mogu podeliti na one koji su izazvani njegovim depresivnim dejstvom na kostnu srž, na sindrom nalik gripu (flu-like symptoms) , na psihijatrijske poremećaje, kožne promene i autoimune fenomene, a od strane ribavirina je to pre svega hemolitička anemija (19,69).

1.2.10.4. Lečenje bolesnika koji nemaju adekvatan odgovor na kombinovanu antivirusnu terapiju

Veliki problem predstavlja terapija non-respondera i relapsa tj. osoba koje nisu uspešno odgovorili na standardnu antivirusnu terapiju, što čini nešto manje od polovine pacijenata. **Non-responderi** predstavljaju pacijente kod kojih nije došlo do nestanka HCV RNA tokom antivirusne terapije, odnosno pacijente kod kojih taj pad HCV RNA u serumu nakon 12 nedelja lečenja nije veći od 2 log. Parcijalni responderi su oni pacijenti kod kojih je nakon 12 nedelja lečenja došlo do pada HCV RNA više od 2 log, ali je nakon 24 nedelje lečenja HCV RNA ostala i dalje prisutna serumu obolele osobe. **Relapsari** su pacijenti kod kojih je HCV RNA nedetektabilna u serumu, ali se u toku šestomesečnog praćenja ponovo javlja. Kod obe grupe pacijenata uspeh ponovnog lečenja je manji nego kod lečenje tzv. "naivnih" pacijenata (koji nisu primali antivirusnu terapiju), uspeh lečenja meren postizanjem stabilnog virusološkog odgovora je veći kod relapsa (do 50%) nego kod non-respondera (do 20%). U lečenju treba primeniti kombinaciju pegilovanog interferona-alfa i ribavirina u standardnim dozama, u dužini trajanja lečenja za relapsere 48 nedelja a za non-respondere 72 nedelje (120,121,122).

Terapija održavanja PEG-IFN kod nonrepondera se nije pokazala, uspešnom i ne preporučuje se. Mnogo se očekuje od novih antivirusnih lekova, inhibitora virusne proteaze i polimeraze, koji bi se primenjivali u kombinaciji sa standardnom antivirusnom terapijom.

1.2.10.5.Novi lekovi

Obzirom da postojeća standardna antivirusna terapija pegilovanim interferonom-alfa i ribavirinom nije dovoljno efikasna, da može imati ozbiljne neželjene efekte, preduzimaju se naponi u izučavanju novih antivirusnih lekova koji bi bili bolji i efikasniji. Najviše se očekuje od HCV direktno delujućih antivirusnih lekova (STAT-C, specifically targeted antiviral therapy for hepatitis C), koji deluju na enzime hepatitis C virusa koji su neophodni za njegovu replikaciju, pre svega na HCV proteazu i polimerazu. Dva leka iz grupe proteaza inhibitora telaprevir i boceprevir su danas već registrovana ili su u pojedinim zemljama u fazi registracije, te se njihova skorašnja primena očekuje i kod nas. (123,124,125).

1.3. STEATOZA JETRE

Steatoza jetre predstavlja nakupljanje masnih čestica - pre svega triglicerida u hepatocitima. Granica je najčešće postavljena na 5%, te se toleriše <5% hepatocita zahvaćenih masnom promenom kao normalno stanje, a više od toga se smatra steatozom odnosno masnom jetrom. Za gradiranje steatoze postoji nekoliko scoring (brojčanih) sistema, koji se zasnivaju na ukupnom procentu hepatocita zahvaćenih masnom promenom. Najčešće se koristi Brunt-ov system modifikovan po Kleiner-u, po kojem se steatoza označava kao blaga (5-33% hepatocita zahvaćenih masnom promenom), umerena (>33-66%) i teška (>66%) (129).

Patohistološki se razlikuje dva oblika steatoze, makrovezikularna i mikrovezikularna. Makrovezikularna steatoza se odlikuje sa krupnim masnim česticama

u hepatocitu koje guraju jedro prema periferiji hepatocita, viđa se kod alkoholne bolesti jetre, gojaznosti, hiperlipidemija, šećerne bolesti, lećenja kortikosteroidima, hroničnog virusnog C hepatitisa itd. Mikrovezikularna steatoza se karakteriše malim brojnim vakuolama u citoplazmi hepatocita oko jedra koje je u sredini, daju penast izgled citoplazmi i javlja se pre svega kod akutne masne jetre u trudnoći, Rey-ovog sindroma i nekim drugim stanjima (130).

Steatoza jetre se smatra delom kliničko-patološkog entiteta nealkoholne masne bolesti jetre (NAFLD), kojeg čine obična steatoza i steatohepatitis (NASH). Steatohepatitis je agresivna forma steatoze kada postoje znaci hepatocelularnog oštećenja. Dok je steatoza uglavnom benignog kliničkog toka i reverzibilna pojava, steatohepatitis se smatra visoko rizičnim stanjem za razvoj fibroze, ciroze i hepatocelularnog karcinoma (131,132).

Tačnu prevalencu nealkoholne masne bolesti jetre je teško utvrditi jer prevalenca zavisi od metodologije kojom se ona utvrđuje (kojom dijagnostičkom metodom i u kojoj populaciji), a kreće se od 10 do 20% u opštoj populaciji. Smatra se da će prevalenca steatoze rasti sa porastom gojaznosti, tipa 2 dijabetesa i metaboličkog sindroma (133,134,135).

Riziko faktori za nastanak nealkoholne masne bolesti jetre su pre svega gojaznost, tip 2 dijabetesa, dislipidemija i hipertenzija tj. postojanje metaboličkog sindroma (sindroma u čijoj osnovi leži insulinska rezistencija). Pojedini autori smatraju nealkoholnu masnu bolest jetre hepatičkom manifestacijom metaboličkog sindroma, odnosno insulinske rezistencije (136,137,138). Metabolički sindrom predstavlja skup

različitih metaboličkih poremećaja koji povećavaju rizik za nastanak kardiovaskularnih bolesti i dijabetesa. Za postojanje metaboličkog sindroma osoba mora imati prisutna minimum 3 sledeća dijagnostička kriterijuma: obim struka veći od 102 cm za muškarce odnosno 88 cm za žene, povišene vrednosti glikemije, povišene vrednosti triglicerida u serumu, snižene vrednosti HDL holesterola u serumu i povišen krvni pritisak (139). Mehanizam nastanka steatoze se svodi na postojanje insulinske rezistencije, stanja neadekvatnog fiziološkog odgovora na insulin u skeletnim mišićima, masnom tkivu i jetri. U takvim uslovima dolazi do povećanog oslobađanja slobodnih masnih kiselina u cirkulaciju zbog povećane lipolize i de novo lipogeneze. Povećana količina slobodnih masnih kiselina preplavljuje jetru, dovodi do poremećenog odnosa između njihove oksidacije i oslobađanja iz jetre, što dovodi do akumulacije lipida u jetri i pojave steatoze. To je prvi korak u tzv. „double-hit“ hipotezi patogeneze NAFLD. Drugi korak u patogenezi se nadovezuje na steatozu i rezultira zapaljenjem (NASH) i fibrozom. U uslovima oksidativnog stresa i povećanja ROS (reactive oxygen species), slobodnih radikala i pokretanja inflamatorne kaskade posredstvom proinflamatornih citokina u kojoj učestvuju hepatociti, zvezdaste ćelije, adipociti i Kupferove ćelije, dolazi do apoptoze hepatocita, inflamatornog oštećenja i fibroze jetre (140,141,142).

Većina pacijenata sa steatozom jetre je asimptomatska. Dijagnoza se najčešće postavlja kada se otkriju patološki testovi biohemijskog sindroma jetre. U steatozi jetre se javljaju lako do umereno povišene aktivnosti aminotransferaza, mada aminotransferaze mogu biti i u granicama referentnih vrednosti. Ultrasonografijom jetre se masna jetra prikazuje kao „svetla“ jetra zbog njene povećane ehogenosti. Ultrasonografski pregled je manje pogodan za detekciju steatoze kada je procenat masti u jetri manji od 30%. Posle

ultrazvučnog pregleda i sumnje na steatozu, dijagnoza se potvrđuje biopsijom jetre, a patohistološki pregledom tkiva jetre se utvrđuje stepen steatoze. Samo patohistološki je moguće razlikovati običnu steatozu od steatohepatitisa. Postoje i neinvazivni laboratorijski testovi za utvrđivanje steatoze, kao što su Fatty Liver Index, SteatoTest, Nashtest, čija je upotreba zaštićena i komercijalna i samim tim nije široko dostupna, gde se steatoza izračunava preko određenih formula upotrebom antropometrijskih i laboratorijskih parametara. (142,143,144).

Lečenje steatoze jetre je usmereno na rizikofaktore koji su doveli do steatoze. Najčešće je to promena načina života: hipokalorijska dijeta i vežbanje; farmakoterapija: lekovi koji regulišu apetit (sibutramine), inhibišu pankreasnu lipazu u crevima (orlistat), insulin senzibilišući lekovi (metformin, glitazon), antioksidansi (vit.E,vit C, betain); hepatoprotektivi (silybinin); i lekovi za lečenje hiperlipidemija (142,144).

1.4. HEPATITIS C VIRUS I STEATOZA JETRE

Međusobna povezanost i udruženost hronične HCV infekcije i steatoze jetre je primećena još pre otkrivanja HCV, kada je na patohistološkim pregledima jetre kod obolelih od nonAnonB hepatitisa uočena češća pojava steatoze (145). Zapažena je češće prisustvo HCV infekcije ko obolelih sa metaboličkim sindromom, steatozom jetre, insulinskom rezistencijom i dijabetesom tipa 2. 2009.g. u organizaciji Evropskog udruženja za bolesti jetre organizovana je posebna konferencija pod nazivom „HCV and steatosis“, a u naučnim radovima se pojavljaju nove kovanice kao „virusna steatoza“ (koja se odnosi na HCV genotip 3) „Hepatitis C-associated dysmetabolic syndrome“

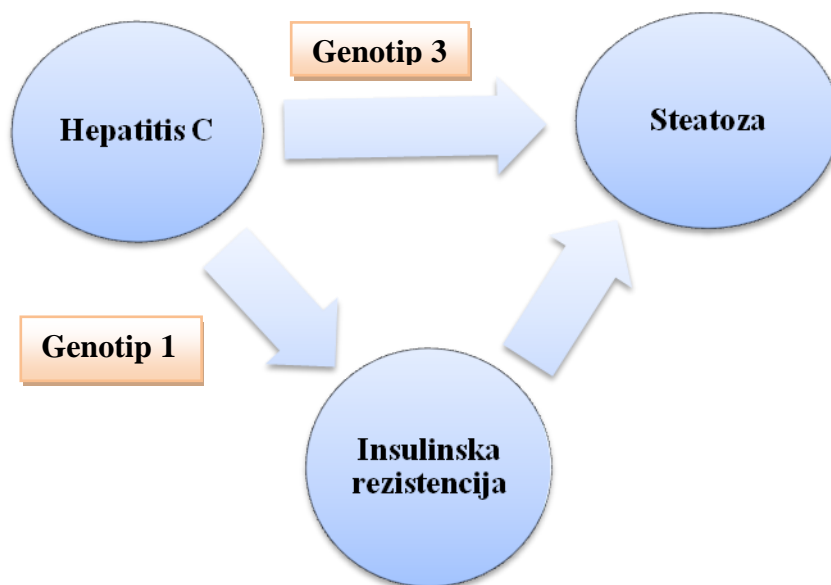
(steatoza i insulinska rezistencija/ dijabetes tip2 i hipoholesterolemija) ili „virus-associated steatohepatitis“ (VASH) (146,147,148,149,150).

Prevalenca steatoze kod HHC je 2-3 puta veća nego prevalenca steatoze kod drugih hroničnih bolesti jetre. Steatoza i hepatitis C zajedno se nalaze mnogo češće nego svaka od njih posebno. Prevalenca se kreće 40-80%, zavisno od istraživača i primenjenih kriterijuma. Čak i kada se uobičajeni faktori koji mogu uticati na nastanak steatoze isključe (konzumacija alkohola, gojaznost, tip 2 dijabetesa, hiperlipidemije i dr.) prevalenca steatoze u hroničnom hepatitisu C ostaje oko 50% (151,152,153,154,155, 156,).

U nastanku steatoze jetre kod hepatitisa C značajni su virusni faktori i faktori domaćina. Virusni faktori se odnose pre svega na genotip 3 HCV za kojeg je dokazano direktno steatogeno dejstvo na hepatocite (157,158). Kod obolelih od HHC genotip 3 prevalenca steatoze je 70-80% (152,159,160,161). Šta više, kod infekcije genotipom 3 HCV, stepen steatoze korelira sa viremijom HCV (162). Da steatoza jetre može biti izazvana direktnim dejstvom genotipa 3 HCV dokazuje još i zapažanje da se steatoza jetre kod većine inficiranih ovim genotipom povlači nakon uspešne eradikacije virusa antivirusnom terapijom (163,164,165).

Što se faktora domaćina tiče, to su isti oni faktori koji su „krivi“ za nastanak nealkoholne masne bolesti jetre: gojaznost, diabetes mellitus, hiperlipidemije, generalno stanja u čijoj je osnovi postojanje insulinske rezistencije. U ovom slučaju se radi o tzv. „metaboličkoj steatozi“, koja je povezana sa infekcijom non-3 genotipa HCV, ali može koegzistirati i sa virusnom steatozom kod osoba sa infekcijom genotipom 3 HCV, tako da

ponekad može postojati i mešoviti tip steatoze. Na povlačenje metaboličke steatoze utiče regulisanje metaboličkih faktora, uspešna antivirusna terapija je bez uticaja ili dovodi samo do delimičnog poboljšanja steatoze (166,167,168,169).



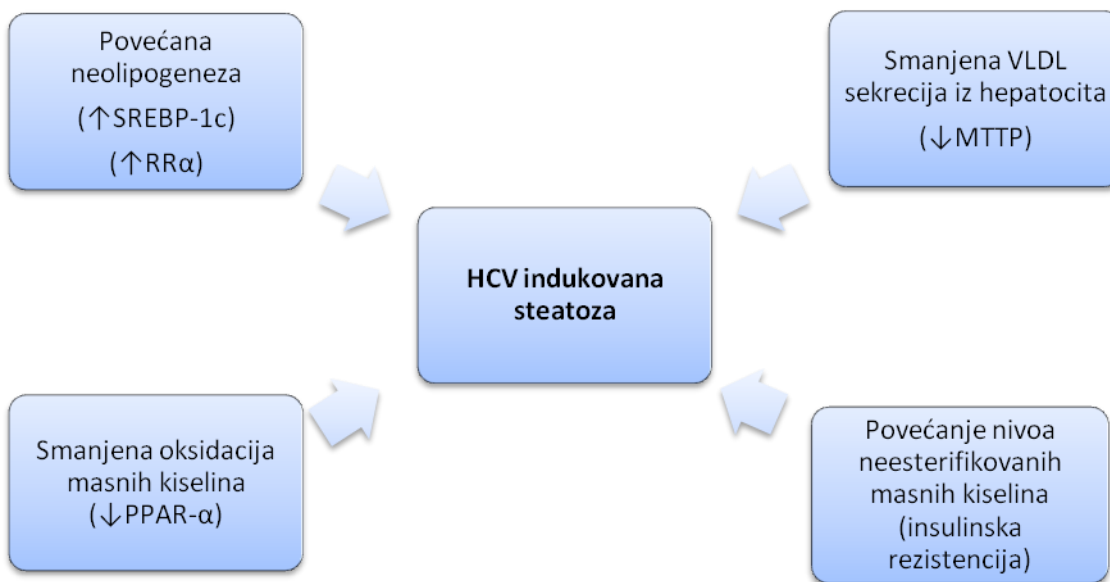
Shema 4. Direktan i indirektan uticaj hepatitisa C virusa na nastanak steatoze

Dakle, pojava steatoze kod pacijenata sa HCV infekcijom nastaje kao posledica citopatogenog dejstva genotipa 3 HCV, ili usled dominantnog prisustva metaboličkih faktora koje HCV infekcija još više pogoršava promocijom insulinske rezistencije (kod non-3 genotip HCV).

U mehanizmu nastanku steatoze kod HCV infekcije ulogu ima sam virus hepatitisa C sa njegovim direktnim dejstvom na metabolizam lipida (G-3) i njegovim indirektnim dejstvom na metaboličke faktore kojim se promoviše nastanak insulinske rezistencije (non G-3). Direktno steatogeno dejstvo genotipa 3 HCV se ogleda u tome što

neki proteini virusa, pre svega HCV core protein, inhibiše aktivnost mikrozomalnog trigliceridnog transfer proteina što rezultira smanjenom VLDL sekrecijom i intracelularnom akumulacijom triglicerida u inficiranim hepatocitima. Takođe HCV core protein izaziva steatozu povećavajući neolipogenezu stimulacijom de novo sinteze masnih kiselina preko indukcije SREBP-1c (sterol regulatory element binding protein-1c) i preko aktivacije retinoid receptora α koji reguliše lipogenezu. Na kraju, HCV izaziva steatozu i putem smanjene oksidacije masnih kiselina, tako što HCV core protein smanjuje ekspresiju i aktivnost gena odgovornog za razgradnju (oksidaciju) masnih kiselina PPAR- α (peroxime proliferator activated receptor- α). Na taj način zbirno gledajući ,HCV (genotip 3) izaziva steatozu jetre ometajući sekreciju lipida iz hepatocita što izaziva njihovo nagomilavanje, povećanu neolipogenezu i smanjenu degradaciju lipida preko smanjene oksidacije masnih kiselina.

Kod HCV non-3 genotipa steatoza jetre je povezana sa postojanjem insulinske rezistencije (IR) kod domaćina, koju HCV infekcija pogoršava ili joj pomaže da se ispolji. U uslovima IR kod osoba sa prisutnim faktorima koji mogu dovesti do bolesti masne jetre (gojaznost, dijabetes, hiperlipidemije, itd.) dolazi do povećanja nivoa neesterifikovanih masnih kiselina u serumu koji dolaze do jetre, preplavljuju je, deponuju se u hepatocitima i dovode do steatoze (170,171,172,173,174).



Shema 5. Mehanizam HCV indukovane masne jetre

Klinički značaj steatoze jetre se ogleda u bržoj progresiji ka fibrozi u pacijenata sa HCV hroničnom infekcijom, preko delovanja proinflamatornih citokina, oksidativnog stresa, insulinske rezistencije i povećane apoptoze hepatocita. Steatoza dovodi do smanjenog uspeha antivirusne terapije što rezultira smanjenom eradikacijom HCV (175,176,177,178,179). Na kraju, steatoza jetre u uslovima hronične HCV infekcije je rizikofaktor za nastanak hepatocelularnog karcinoma jetre (180,181,182,183).

Lečenje HCV steatoze se svodi na otklanjanje njenog uzroka, dakle antivirusna terapija prema standardnom protokolu (pegilovani interferon-alfa 2 u kombinaciji sa ribavirinom), lečenje insulinske rezistencije (metformin, pioglitazon) lečenje šećerne bolesti, lečenje hiperlipidemija, lečenje gojaznosti, primena hepatoprotektiva (silibinin,

esencijalni fosfolipidi) antioksidanasa (vit E, vit C), promena načina života (mršavljenje, apstinencija od alkohola, rekreacija, fizičke vežbe), itd.(184,185).

2.CILJEVI ISTRAŽIVANJA

- Utvrditi postojanje , učestalost i stepen steatoze jetre kod pacijenata sa hroničnim C hepatitisom

- Ispitati uticaj faktora domaćina na nastanak steatoze jetre

- Ispitati uticaj virusnih faktora na pojavu steatoze jetre

- Ispitati uticaj steatoze jetre na ishod antivirusne terapije u hroničnom hepatitisu C

3.RADNE HIPOTEZE

- 1.Steatoza jetre se često javlja kod obolelih od hepatitisa C
- 2.Na pojavu steatoze jetre utiču faktori domaćina i faktori virusa
- 3.Steatoza jetre smanjuje uspeh antivirusne terapije hepatitisa C

4.MATERIJAL I METODE RADA

4.1.Konstrukcija i način izbora uzorka

Istraživanje je sprovedeno kao kohortna prospektivna studija u koju je bilo uključeno 123 bolesnika sa hroničnim hepatitisom C, ispitivanih i lečenih na Klinici za infektivne bolesti Kliničkog centra Vojvodine u Novom Sadu, u periodu januar 2009.god.- jun 2010.god. Svi ispitanici su bili novootkriveni bolesnici sa hroničnim C hepatitisom koji do sada nisu primali antivirusnu terapiju (tzv.“naivni pacijenti“). Ispitanici su na osnovu prisustva steatoze jetre podeljeni u dve grupe, prvu sa steatozom jetre i hroničnom hepatitis C virusnom infekcijom gde je bilo 43 bolesnika i drugu sa hroničnom hepatitis C virusnom infekcijom bez steatoze jetre gde je svrstano 80 osoba, koji su ujedno činili kontrolnu grupu.

Svi ispitanici su dali saglasnot za učestvovanje u istraživanju potpisivanjem informativnog pristanka.

4.2.Kriterijumi za uključivanje u studiju :

- prisustvo hroničnog C virusnog hepatitisa (pozitivan PCR HCV RNA i patohistološka potvrda hroničnog hepatitisa)
- prisustvo steatoze jetre(patohistološkim pregledom tkiva jetre) (za prvu grupu ispitanika)
- životna dob 18-65 god.

4.3.Kriterijumi za ne uključivanje u studiju:

-HBsAg seropozitivnost

-Anti HIV seropozitivnost

-autoimuni hepatitis

-postojanje hemohromatoze ili Wilsonove bolesti

-prisustvo dekompenzovane ciroze jetre

-prisustvo dekopenzovanog srčanog oboljenja unazad šest meseci

-patološke vrednosti T3,T4,TSH ili antitiroidnih antitela

-hemoglobinopatije

-zloupotreba alkohola unazad 6 meseci (konzumacija alkohola više od 40 mg dnevno za muškarce i više od 20 mg dnevno za žene)

-uživanje opojnih sredstava unazad godinu dana (na osnovu izveštaja nadležnog psihijatra koji prati, kontroliše i leči bolesnika)

-upotreba lekova unazad 6 meseci koji mogu dovesti do steatoze jetre(kortikosteroidi, estrogeni, amiodaron, nifedipin,diltiazem)

-prethodno lečeni antivirusnom terapijom Pegasys+Copegus

-preosetljivost na peginterferon ili ribavirin

-trudnoća i dojenje

4.4.Kriterijumi za isključivanje iz studije:

- pojava neželjenih dejstava primenjene antivirusne terapije takvog intenziteta da zahteva smanjenje doze ili prekid terapije.

4.5.Dijagnostika hroničnog hepatitisa C

Dijagnoza hroničnog hepatitisa C je postavljena na osnovu:

- povišene aktivnosti alaninaminotransferaze (ALT), iznad gornje granice referentne vrednosti u trajanju duže od 6 meseci
- prisustva anti-HCV antitela u krvi bolesnika
- dokaza o postojanju virusa hepatitisa C u krvi bolesnika PCR metodom
- patohistološkog pregleda uzorka tkiva jetre dobijenog slepom biopsijom

Dokazivanje prisustva virusa hepatitisa C u krvi ispitanika je rađeno PCR HCV RNA testom (Polymerase Chain Reaction, Hepatitis C Virus, Ribonucleic Acid) koje se sprovedeno u Virusološkoj laboratoriji Instituta za infektivne i tropske bolesti Kliničkog centra Srbije u Beogradu. Rađen je PCR test:

KVALITATIVAN TEST: Cobas Amplicor HCV Test version 2.0 (Roche Diagnostics, Menheim), osetljivost: 50 iu/ml.

KVANTITATIVAN TEST: Cobas Amplicor HCV Monitor test version 2.0 (Roche Diagnostics, Menheim), osetljivost: 600 iu/ml.

GENOTIPIZACIJA HCV: Linear Array HCV genotyping trst (Roche Diagnostics).

Testiranje je rađeno kod svih ispitanika pre početka antivirusne terapije i šest meseci posle završene terapije.

Kod svih ispitanika je pre uvođenja antivirusne terapije urađena slepa aspiraciona biopsija jetre, te je na osnovu patohistološkog pregleda uzorka tkiva jetre koji je tretiran standardnom histološkom tehnikom za sitne biopsije i bojen hematoksilin-eozin metodom, postavljena dijagnoza hroničnog hepatitisa. Za određivanje nekroinflamatorne aktivnosti je korišten Knodell-ov numerički indeks, stepen fibroze je takođe izražavan prema Knodell-ovom modifikovanom numeričkom skor. Na osnovu procenta hepatocita zahvaćenih masnim promenama je konstatovano prisustvo steatoze, gde je za granicu za postojanje steatoze uzeto $\geq 5\%$ hepatocita zahvaćenih masnom promenom. Na osnovu tog procenta pacijenti su podeljeni na one BEZ STEATOZE (grade 0), na one sa LAKOM STEATOZOM, ako je masnim promenama zahvaćeno $\geq 5\% < 30\%$ hepatocita (grade 1), na one sa UMERENOM STEATOZOM, ako je masnim promenama zahvaćeno $\geq 30 < 60\%$ hepatocita (grade 2) i na one sa TEŠKOM STEATOZOM, kod kojih je više od 60% hepatocita zahvaćeno masnim promenama (grade 3).

Svi bolesnici uključeni u ispitivanje su lečeni kombinovanom antivirusnom terapijom, pegilovanim interferonom-alfa 2a (PEGASYS®, Roche, Basel, Švajcarska) i ribavirinom (COPEGUS®, Roche, Švajcarska). Doza pegilovanog interferona je bila ista za sve pacijente i iznosila je 180 μg s.c. jednom nedeljno, a doza ribavirina je zavisila od telesne mase pacijenta (za one ispod 75 kg 1000 mg dnevno, a za one sa i iznad 75 kg 1200 mg dnevno) i genotipa hepatitis C virusa (genotip 2 i 3 uzimaju 800 mg dnevno bez

obzira na telesnu masu). Dužina trajanja lečenja je zavisila od genotipa hepatitis C virusa, koji je određen pre uključivanja terapije. Tako je u slučaju infekcije genotipom 2 i 3 HCV lečenje trajalo 24 nedelje, a za genotip 1 i 4 HCV 48 nedelja.

Uspeh antivirusne terapije je ocenjivan na osnovu odsustva ili prisustva HCV RNA u serumu bolesnika 6 meseci od završetka antivirusnog lečenja, PCR metodom. Uspešna terapija je smatrana kada je postignut SVR.

4.6. Protokol ispitivanja

Svaki bolesnik uključen u studiju je ispitan po protokolu koji je sadržavao: anamnezu, epidemiološke podatke, fizikalni pregled, laboratorijske nalaze i nalaz patohistološkog pregleda biopsije jetre.

Od anamnestičkih podataka uzimili su se podaci o uzrastu, polu, ranijem lečenju hepatitisa C, podaci o ranijim drugim bolestima hepatobilijarnog trakta, o uzimanju lekova koji mogu dovesti do steatoze jetre (amiodaron, nifedipin, diltiazem, tamoxifen, glikokortikoidi, sintetski estrogeni, metotreksat), o kontaktu sa hepatotoksičnim materijama (organski rastvarači, fosfor, toksini gljiva) i navikama o konzumaciji alkohola (svakodnevni unos alkohola u poslednjih 6 meseci i to veći od 20g/dan za žene, odnosno veći od 40 g/dan za muškarce).

Iz podataka dobijenih epidemiološkom anketom su dobijeni podaci o izvoru infekcije, dužini trajanja infekcije i starosti bolesnika u momentu infekcije HCV. Fizikalni pregled bolesnika se radio na uobičajen način, uz antropometrijska merenja,

telesne visine i težine, na osnovu kojih se izračunavao indeks telesne mase (BMI-body mass index) koji predstavlja odnos telesne mase i kvadrata telesne visine izražene u metrima , $BMI=TM(kg)/TV^2(m)$, a koji služi za određivanje gojaznosti (BMI=30,0 ili veći od toga), prekomerne uhranjenosti tj. predgojaznosti (BMI=25-29,9), i normalne uhranjenosti (BMI=18,5-24,9).

Za dijagnozu hroničnog hepatitisa C su uzimani su sledeći laboratorijski nalazi: alaninaminotransferaze (ALT), anti HCVAt , PCR HCV RNA kvalitativni test, PCR HCV RNA kvantitativni test iskazan brojem kopija u ml seruma (cop/ml) i genotipizacija HCV.

Od laboratorijskih analiza su pre početka terapije uzimani podaci o visini glikemije naše i rezultati lipidnog statusa.U cilju isključenja drugih uzroka hronične bolesti jetre urađen je HBsAg, Anti HIVAt, antinuklearna antitela, antimitohondrijalna antitela, antiglatkomišićna antitela i autoantitela na zbirnom supstratu.

Istraživanje za svakog ispitanika se završavalo 6 meseci po završenoj terapiji kada je procenjivan uspeh antivirusnog lečenja kvalitativnim HCV RNA PCR testom .

4.7. Metode statističke obrade podataka

Prikupljeni podaci su uneti u kompjutersku bazu podataka na personalnom računaru. Statistička obrada podataka izvršena je statističkim paketom i programom SPSS ver. 13.0

U analizi dobijenih podataka koristile su se standardne metode statističkih istraživanja (deskriptivna statistika i distribucija frekvencija). Deskriptivni statistički parametri su prikazani standardnim statističkim varijablama (srednja aritmetička vrednost (\bar{X}), standardna devijacija (SD), intervalne vrednosti (maksimum i minimum).

Ispitivanje statističke značajnosti je određivano za parametrijske podatke ANOVA testom (analiza varijanse), a za neparametrijske χ^2 testom, Fisher-ovim ili Mann-Whitney-jevim testom. Fisher-ov test je korišćen u slučaju analiziranja statističke značajnosti između dve varijable od kojih svaka može da ima dve vrednosti. U suprotnom (ukoliko bar jedna varijabla ima više od dve vrednosti) radio se χ^2 test.

Za sve testove statističke značajnosti nivo poverenja iznosio je 0,05.

U analizi uticaja određenih faktora rizika na uspeh terapije korišćena je multivarijantna logistička regresiona analiza. Varijable koje su statistički značajno uticale na uspešnost terapije u univarijantnoj analizi, uvrštene su potom u multivarijabilni logističko-regresioni model uz određivanje odds ratio i 95% confidence interval-a.

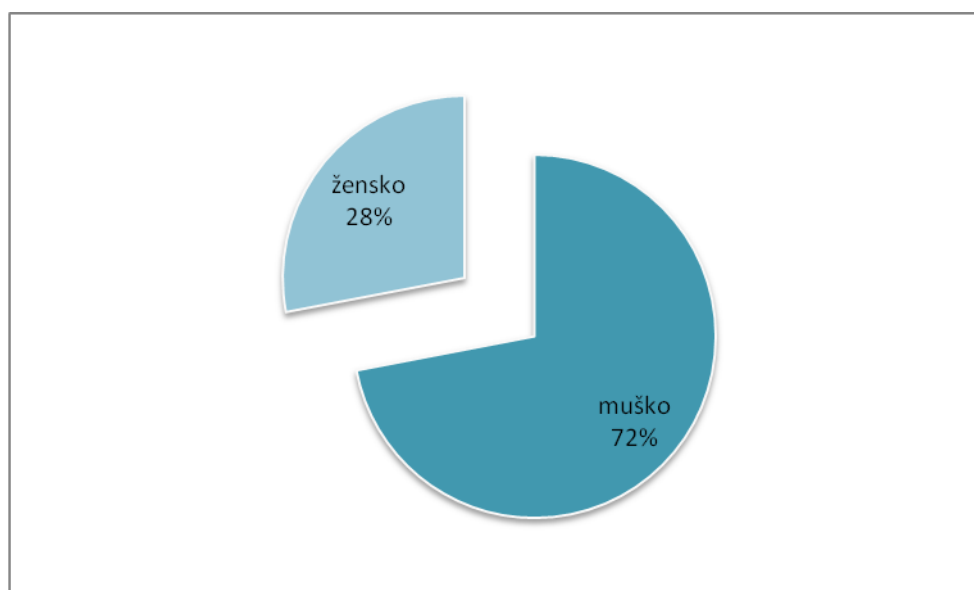
Rezultati su prikazani putem apsolutnih brojeva, procentima, tabelarno i grafički uz tekstualni komentar.

5.REZULTATI

5.1.Opšte demografske, kliničke i biohemijske karakteristike uzorka

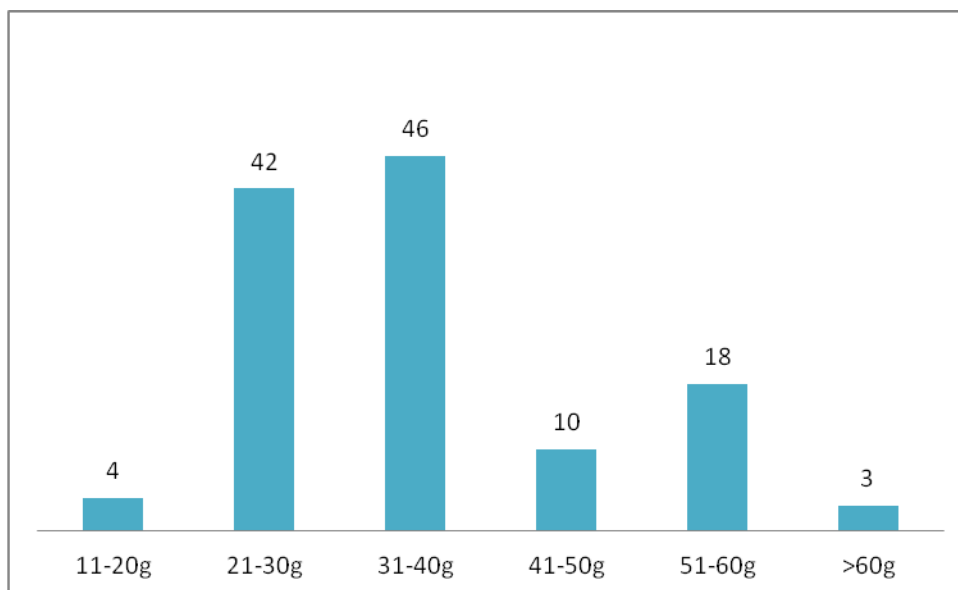
Od ukupno 123 bolesnika obuhvaćenih istraživanjem, dominantne su bile osobe **muškog pola** kojih je bilo ukupno 89 (72,36%), dok je osoba **ženskog pola** bilo ukupno 34 (27,64%).

Grafikon 1.Distribucija pacijenata prema polu



Najmlađi pacijent obuhvaćen istraživanjem je imao 19 godina, a najstariji 69 godina, prosečna **starost ispitanika** je bila 36,05 godina (\pm SD 11,12). Najviše ispitanika je bilo u mlađoj(21-30g) i srednjoj životnoj dobi(31-40g), ukupno 88 ispitanika, što čini 71,5% uzorka.

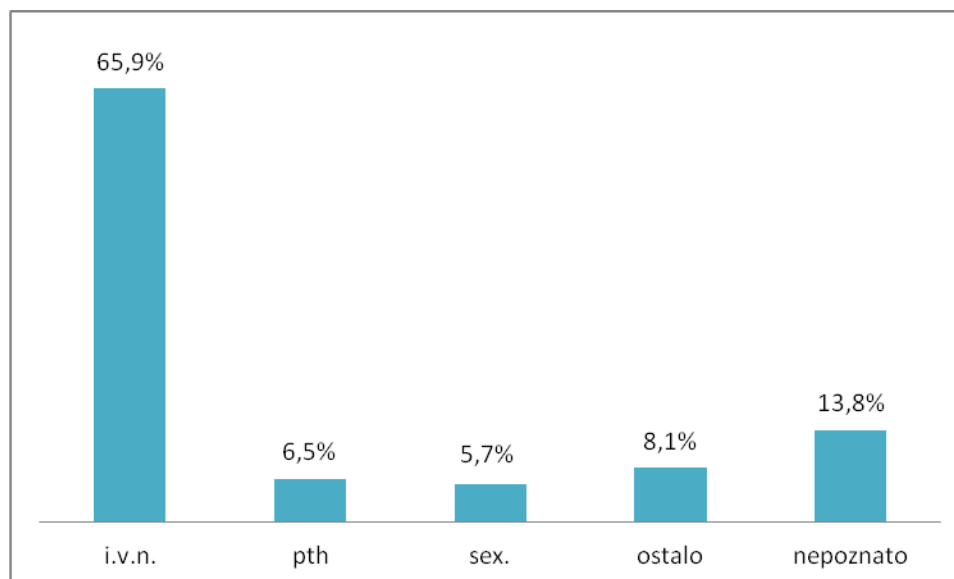
Grafikon 2. Starosna struktura bolesnika



U celokupnom uzorku gotovo $\frac{3}{4}$ pacijenata (74,8%) je bilo mlađih od 40 godina starosti (92/123), dok je 25,2% ispitanika bilo starije od 40 godina (31/123).

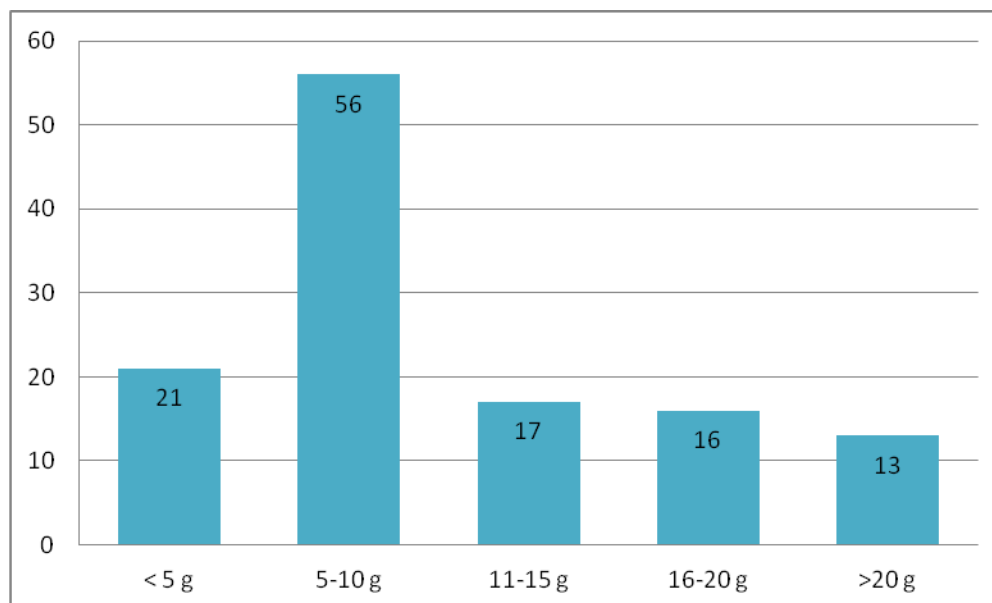
Kod ispitanih bolesnika najčešći **put prenošenja HCV infekcije** je bio inokulacijom putem intravenske upotrebe narkotika, tako da je populacija bivših intravenskih zavisnika od opijata činila najveći deo ispitanika i bilo ih je 81 (65,9%). Postransfuzioni hepatitis C je imalo 8 bolesnika (6,5%), seksualnim putem je hepatitis C virusnu infekciju dobilo 7 bolesnika (5,7%), ostalim parenteralnim putem (tetovaža, pirsing, stomatološke i medicinske intervencije) je infekciju dobilo 10 bolesnika (8,1%), kod 17 ispitanika (13,8%) nije otkriven način HCV infekcije.

Grafikon 3. Način prenošenja HCV infekcije



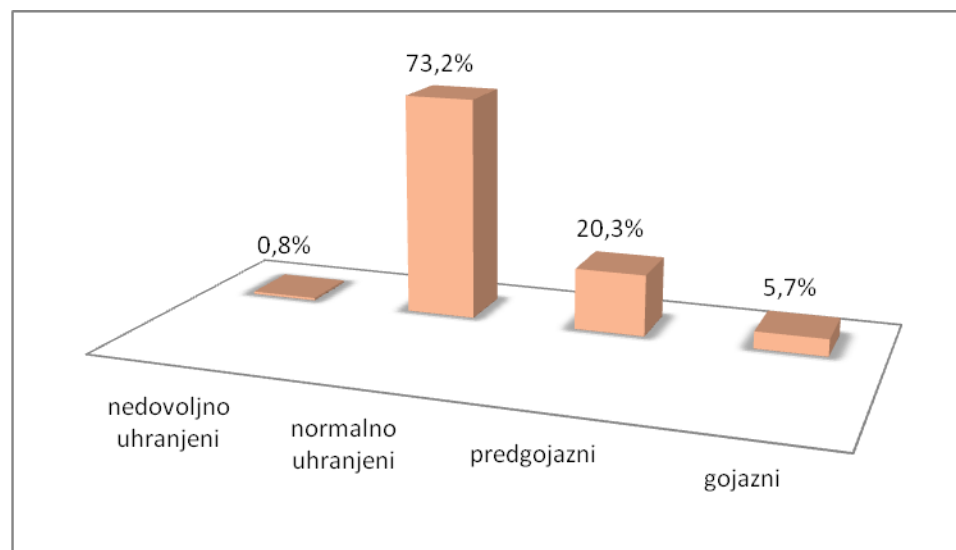
Prosečna **dužina trajanja HCV infekcije** u ispitanoj grupi je bila 11 godina, minimalno jednu godinu, a najduže 55 godina ($X=11,96$, $SD\pm 9,36$). Kod najvećeg broja bolesnika 45,5% (56/123), HCV infekcija je trajala 5-10 godina.

Grafikon 4. Dužina trajanja HCV infekcije



Izračunavanjem **BMI** dobili smo da je prosečna vrednost za celu ispitanu grupu 24,37 , da je najmanji indeks telesne mase iznosio 17,9 , a najveći 33,70 ($X=24,37$, $SD\pm 2,44$). Najviše ispitanika je bilo u grupi normalno uhranjenih, ukupno 90 osoba (73,17%), manje u grupi predgojaznih gde je bilo 25 bolesnika (20,32%), najmanje u grupi gojaznih osoba 7 bolesnika (5,69%), dok je jedna osoba bila nedovoljno uhranjena.

Grafikon 5. Struktura ispitanika prema BMI



Snizhen broj **trombocita** pre antivirusne terapije je imalo 11 bolesnika (8,94%), dok je velika većina, njih 112 imala normalan broj trombocita (91,16%). Prosečna vrednost broja trombocita kod svih ispitanika je iznosila $229,15 \times 10^9/l$ ($SD \pm 67,390$), sa minimalnom vrednošću 88 i maksimalnom $414 \times 10^9/l$.

Vrednost **glikemije** našte dobijena je kod 120 pacijenata, prosečna vrednost je iznosila 5,05 mmol/l ($SD \pm 1,01$). Najniža nađena vrednost je bila 3,70 mmol/l, a najviša 6,40 mmol/l.

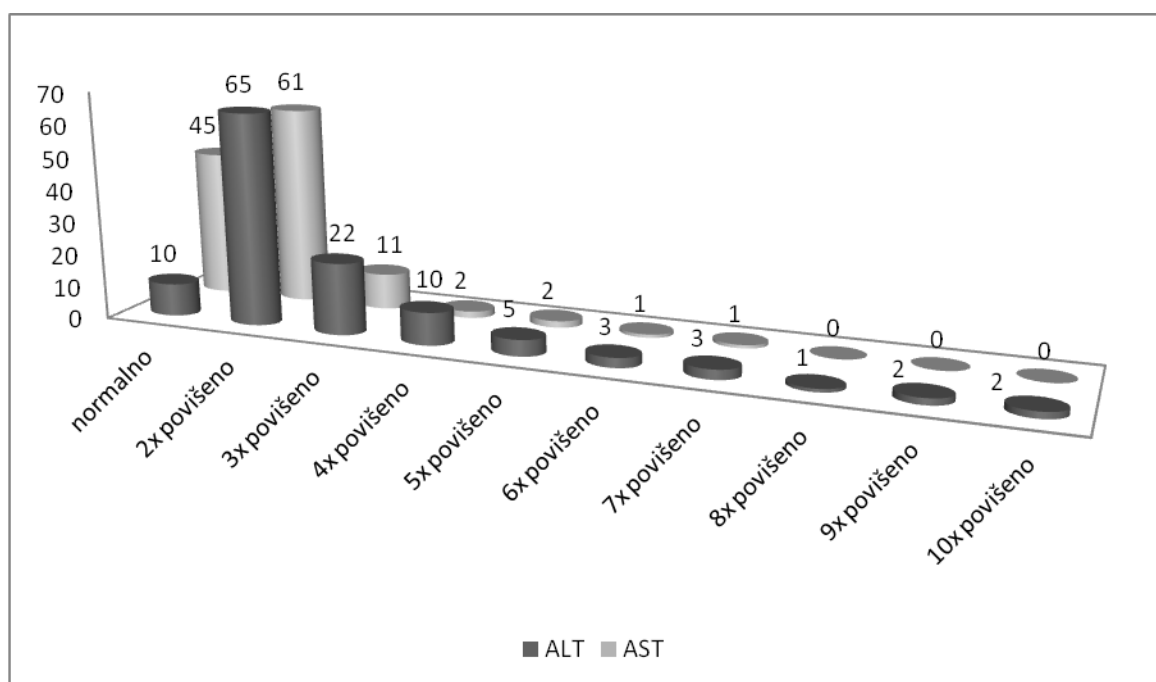
Prosečna vrednost ukupnog **bilirubina** kod svih ispitanika je iznosila 11,80 mmol/l($SD \pm 4,72$), sa minimalnom vrednošću 4,0 mmol/l, a maksimalnom 33,0 mmol/l.

Vrednost **ALT** je bila povišena kod 91,9% ispitanih pacijenata (113/123 pacijenata), sa prosečnom vrednošću 106,80 U/l ($SD \pm 74,112$), sa minimalno nađenom vrednošću 29 U/l i maksimalnom 401 U/l. Najčešće, kod polovine celokupnog uzorka

(52,8% tj. kod 65 ispitanika) je aktivnost ALT bila dva puta povišena u odnosu na gornju granicu referentne vrednosti.

AST je bila povišena kod 63,4% ispitanika (78/123), sa prosečnom vrednošću 57,76 U/l (SD±36,706), sa minimalno nađenom vrednošću 3 U/l i maksimalnom 272 U/l. Takođe kao i kod alaninaminotransferaze, najčešće je aktivnost AST bila povišena dva puta iznad normale (kod 61 ispitanika tj. 49,6%).

Grafikon 6. Kretanje vrednosti ALT i AST



GGT je bila patološke aktivnosti kod 50,45% ispitanika (62/123), sa prosečnom vrednošću 71,36 U/l (SD±49,900), minimalnom vrednošću 10 i maksimalnom 312 U/l.

Alkalna fosfataza je bila povišena samo kod dva ispitanika (2/123) što je iznosilo 1,62%, prosečno je iznosila 91,02 U/l (SD±15,374), sa minimalnom vrednošću 49 i maksimalnom 172 U/l.

Kod svih ispitanika je **vrednost albuminemije** bila u granicama normale, sa prosečnom vrednošću 46,4 g/l (SD±3,294), minimalnom 39 g/l i maksimalnom 55 g/l.

Protrombinsko vreme je bilo produženo samo kod jednog ispitanika (1/123) što je iznosilo 0,81%, dok je kod ostalih ispitanika bilo u granicama normalnih vrednosti sa prosečnom vrednošću 1,0243 (SD±0,104).

Patološku vrednost **alfa-fetoproteina** je imalo 8,94% ispitanika (11/123), sa prosečnom vrednošću 3,80 IU/ml (SD±4,932), sa minimalnom vrednošću 1,00 IU/ml i maksimalnom 47,90 IU/ml.

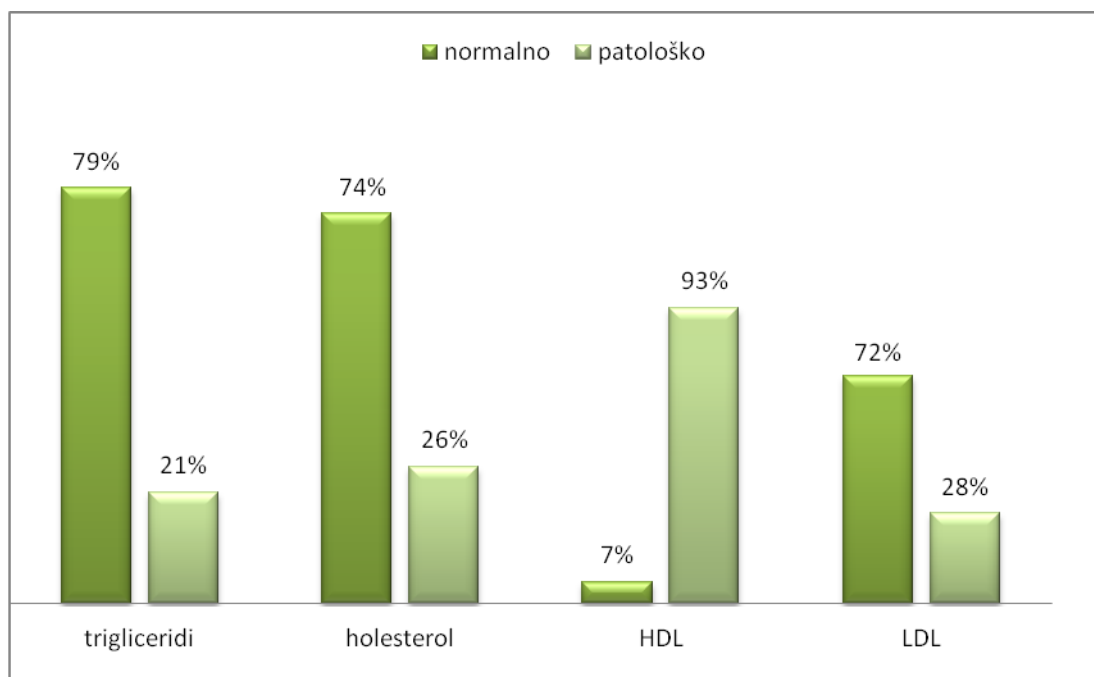
Povišene **trigliceride** u krvi je imalo 21,30% ispitanika (26/123), većina je imala vrednost triglicerida u serumu u granicama normalnih vrednosti (78,70%, 97/123). Prosečna vrednost triglicerida u serumu je iznosila 1,32 mmol/l za ceo uzorak (SD±0,641), vrednost se kretala od 0,42-3,67 mmol/l.

Povišenu vrednost **ukupnog holesterola** u krvi je imalo 26,20% ispitanika (32/123), prosečna vrednost je iznosila 4,82 mmol/l (SD±0,964), sa minimalnom vrednošću 2,22 i maksimalnom 7,21 mmol/l.

Kompletan lipidski status je urađen kod 74 ispitanika, patološku vrednost **HDL-holesterola** je imala velika većina ispitanika ,93,2% (69/74), sa prosečnom vrednošću 1,19 mmol/l (SD±0,285), vrednost se kretala od 0,69-2,26 mmol/l. **LDL-holesterol** je

bio patološki kod 21 ispitanika (28,4%), sa prosečnom vrednošću 3,07 mmol/l (SD±0,886), minimalnom 0,98 i maksimalnom 5,52 mmol/l.

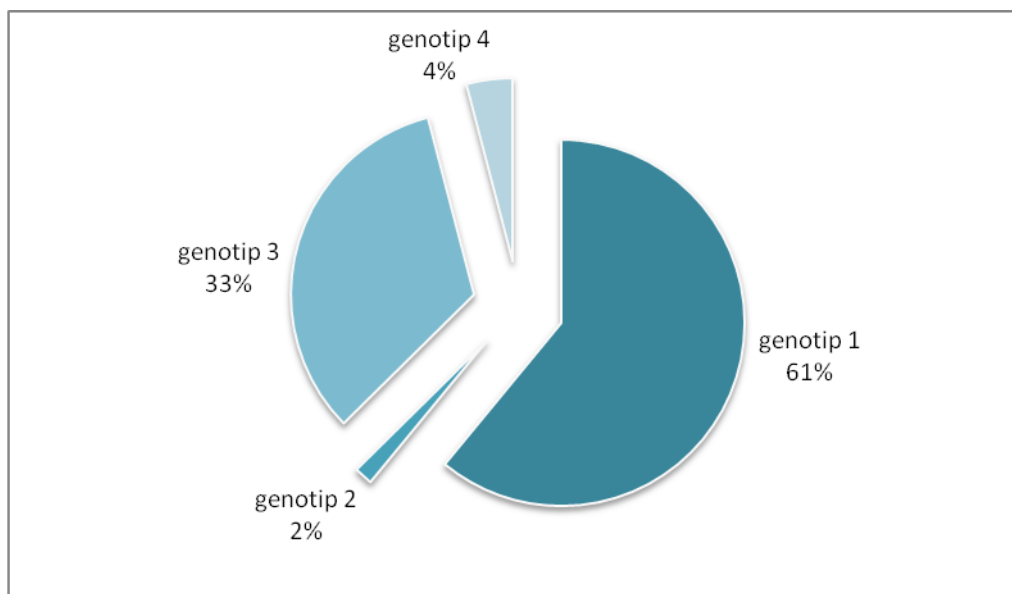
Grafikon 7. Odnos ispitanika sa normalnim i patološkim vrednostima lipida



5.2. Virusološke analize ispitanika

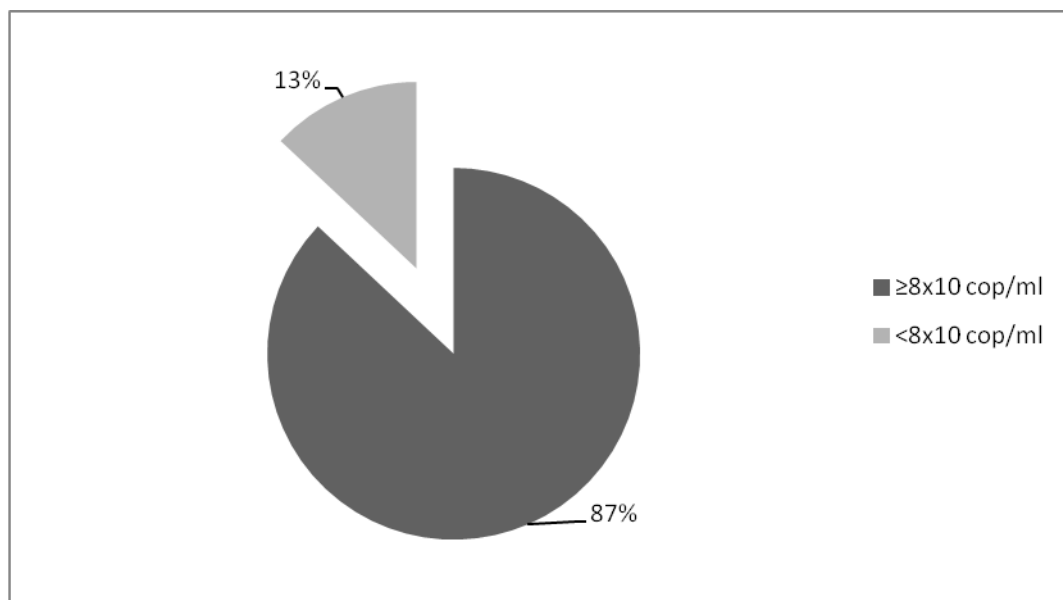
Genotipizacija HCV je urađena kod svih 123 ispitanika, najčešće se radilo o genotipu 1 koji je nađen kod 61,0% ispitanika (75/123), kod 33,33% ispitanika se radilo o genotipu 3 (41/123), dok je genotip 4 nađen kod 4,1% ispitanika (5/123) i genotip 2 kod 1,63% ispitanika (2/123). Nije bilo ispitanika istovremeno inficiranih sa dva ili više genotipa HCV.

Grafikon 8. Distribucija ispitanika prema HCV genotipu



Nivo **viremije HCV** je određen kod svih 123 ispitanika, nađena je prosečna vrednost od 10.561.263 cop/ml (SD±21.246.402), sa najmanjom vrednošću 79.900 cop/ml i najvećom 196.020.000 cop/ml.

U odnosu na $\geq 8 \times 10^5$ cop/ml velika većina ispitanika je imala nivo viremije HCV veći od pomenute vrednosti, ukupno 107 ispitanika (86,99%), dok je svega 16 ispitanika imalo viremiju nižu od 8×10^5 cop/ml (13,01%). Odnos ispitanika sa viremijom HCV većom ili manjom od 8×10^5 cop/ml u celom uzorku je prikazan na grafikonu 9.

Grafikon 9. Odnos ispitanika u odnosu na vrednost HCV viremije 8×10^6 cop/ml

5.3. Patohistološke karakteristike uzorka

Prema **indeksu histološke aktivnosti** utvrđene patohistološkim pregledom biopsije jetre cela ispitana grupa od 123 bolesnika se može svrstati u dve grupe, na veću, sa blagom upalom jetre koju je imalo njih 66,66% (82/123) i na manju grupu 33,33% (41/123) koja je imala umerenu upalu jetre. Nije bilo ispitanika sa teškom ili izraženom upalom jetre.

Tabela 2. Podela ispitanika prema indeksu histološke aktivnosti

HIA score	n	%
1-4	82	66,66
5-8	41	33,33
Ukupno	123	100,00

Patohistološkim pregledom biopsije jetre utvrđeno je da 22,76% ispitanika nije imalo znake **fibroze jetre** (28/123), da je najviše njih 36,58% imalo znake lakostepene fibroze (45/123), da je umerenu fibrozu imalo 27,64% ispitanika (34/123), tešku fibrozu 12,19% ispitanika (15/123), a da je znake ciroze imala samo jedna osoba (0,81%).

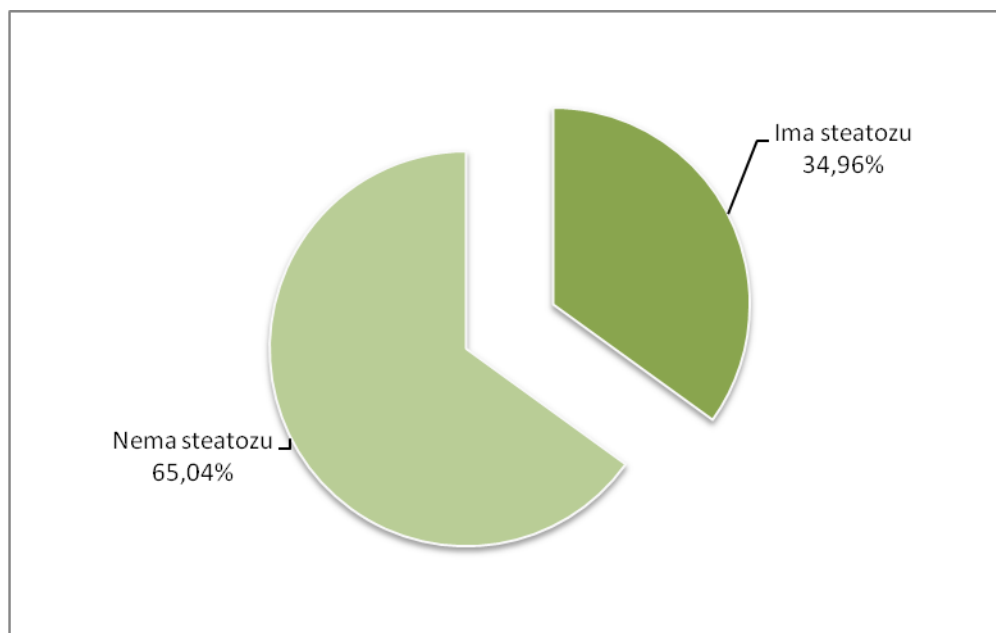
Tabela 3. Fibroza na patohistološkom pregledu jetre

Fibroza stepen	N=123	%
Bez fibroze F0	28	22,76
Lakostepena F1	45	36,58
Umerena F2	34	27,64
Teška F3	15	12,19
Ciroza F4	1	0,81
Σ	123	100,00

U odnosu na postojanje blage (F1+F2) i teške fibroze (F3+F4), većina ispitanika 64,22 % (79/123) je imala na patohistološkom pregledu jetre znake blage fibroze, dok je znake teške fibroze imalo 13,10% (16/123).

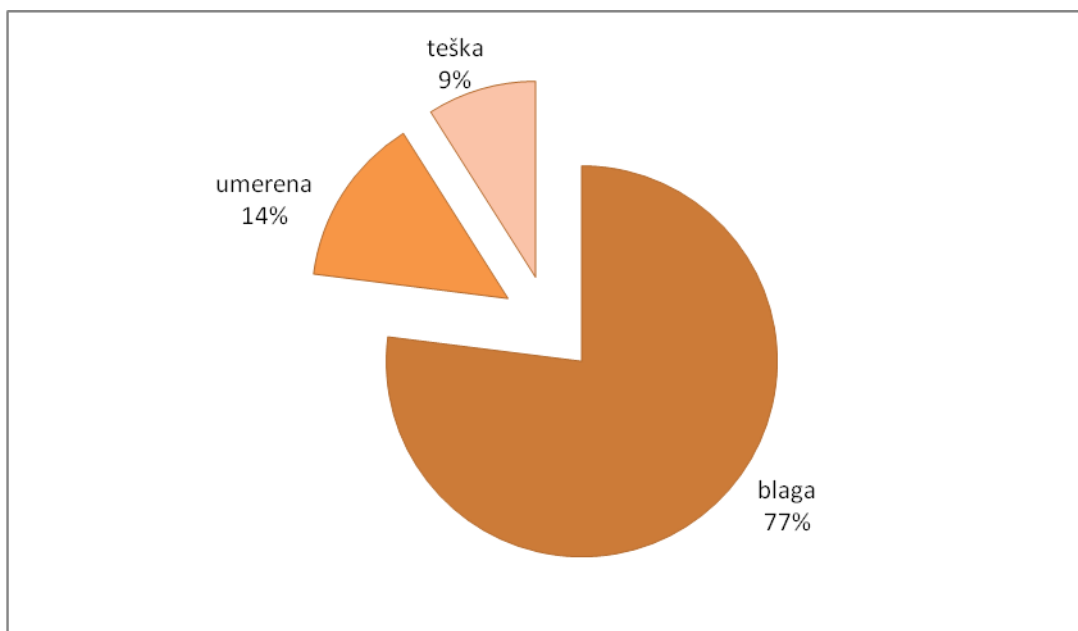
Patohistološkim pregledom jetre je utvrđeno da 43 ispitanika 34,96%(43/123) ima znake **steatoze** jetre, dok ih 65,04% nema (80/123), što je prikazano na grafikonu 10.

Grafikon 10. Pojava steatoze jetre



U odnosu na stepen steatoze, 76,74% ispitanika (33/43) je imalo znake blage steatoze, znake umerene steatoze je imalo 13,95% osoba (6/43), dok je samo 9,31% osoba imalo znake teške steatoze (4/43), što je prikazano na grafikonu 11.

Grafikon 11. Stepen steatoze jetre



5.4. Faktori udruženi sa steatozom

Kod osoba **muškog pola** steatoza jetre je bila prisutna kod 72,36% ispitanika (33/89), a kod osoba ženskog pola kod 27,61% (10/34). Iako se steatoza češće javljala kod muškaraca, nije dobijena statistička značajnost u pojavi steatoze u odnosu na pol ispitanika (Fisher test, $p > 0,05$). Osobe muškog pola su bile više zastupljene i u grupi sa steatozom i grupi bez steatoze.

Tabela 4. Pojava steatoze u odnosu na pol ispitanika

pol		Steatosis		Ukupno
		nema	ima	
muško	n	56	33	89
	%	70,00%	76,74%	72,36%
žensko	n	24	10	34
	%	30,00%	23,26%	27,64%
Ukupno	n	80	43	123
	%	100,0%	100,0%	100,0%

Prosečna **starost** osoba sa steatozom jetre je iznosila 35,88 god. ($SD \pm 10,159$) što nije bilo statistički značajno različito od prosečne starosti osoba bez steatoze 36,14 god. ($SD \pm 11,665$) ($t=0,120$, $p>0,05$).

Tabela 5. Starosna struktura obe grupe ispitanika

Steatosis	N	\bar{X} godina	SD	Minimum	Maximum
nema	80	36,14	11,665	20	65
ima	43	35,88	10,159	19	69
Ukupno	123	36,05	11,120	19	69

Što se tiče **načina prenošenja** hepatitis C virusne infekcije, nije nađena statistički značajna razlika u grupi sa steatozom u odnosu na grupu bez steatoze ($\chi^2=1,225$, $p>0,05$), u obe grupe je najčešći način sticanja HCV infekcije bio intravenskom primenom opijata (29/81 vs 52/81).

Tabela 6. Način prenošenja HCV infekcije

Način prenošenja HCV infekcije		Steatosis		Ukupno
		nema	ima	
intravenska narkomanija	n	52	29	81
	%	65,0%	67,4%	65,9%
posttransfuziono	n	5	3	8
	%	6,3%	7,0%	6,5%
seksualnim putem	n	4	3	7
	%	5,0%	7,0%	5,7%
ostalo	n	8	2	10
	%	10,0%	4,7%	8,1%
nepoznato	n	11	6	17
	%	13,8%	14,0%	13,8%
Ukupno	n	80	43	123
	%	100,0%	100,0%	100,0%

Prosečna **dužina trajanja HCV infekcije** je kod osoba sa steatozom bila godinu dana duža u odnosu na grupu ispitanika bez steatoze (12,53 vs 11,65 god.), međutim, dužina

trajanja HCV infekcije nije bila statistički značajno različita između posmatranih grupa ($t=-0,498$, $p>0,05$).

Tabela 7. Dužna trajanja HCV infekcije

Steatoza	N	\bar{X} godina	SD	Minim. godina	Maxim. godina
nema	80	11,65	9,757	1	55
ima	43	12,53	8,700	1	40
Ukupno	123	11,96	9,374	1	55

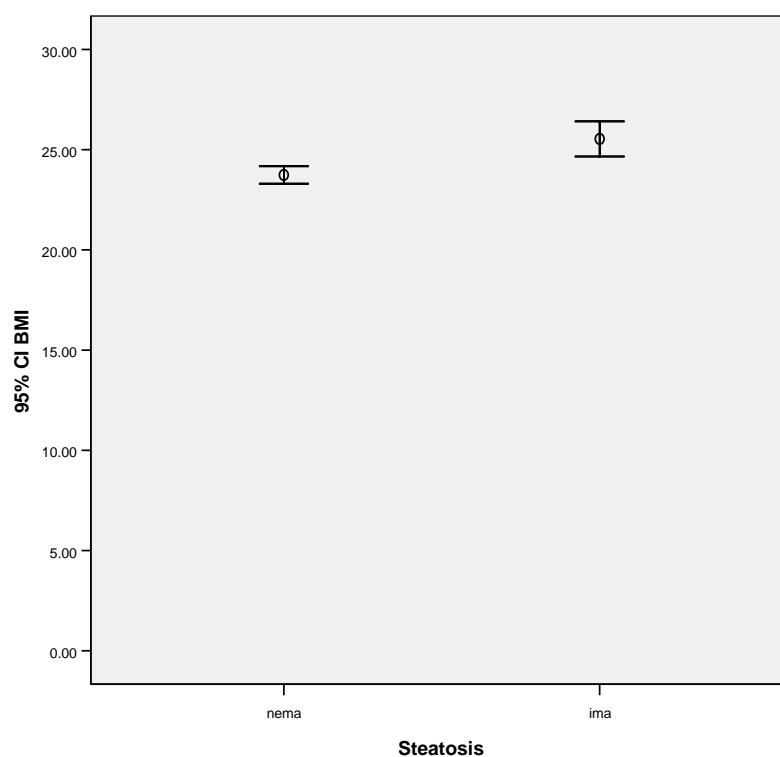
Merenjem **indeksa telesne mase** ustanovljeno je da grupa ispitanika sa steatozom ima statistički značajno veći BMI u odnosu na grupu bez steatoze ($t=-4,129$, $p<0,01$). Prosečan BMI kod ispitanika sa steatozom jetre je iznosio $25,53 \text{ kg/m}^2$, dok je kod ispitanika bez steatoze jetre prosečan BMI bio $23,53 \text{ kg/m}^2$.

Tabela 8. BMI u grupi sa steatozom i bez nje

Steatosis	N	\bar{X}	SD	Minimum	Maximum
nema	80	23,73	1,935	17,9	30,0
ima	43	25,53	2,843	22,0	33,7
Ukupno	122	24,37	2,442	17,9	33,7

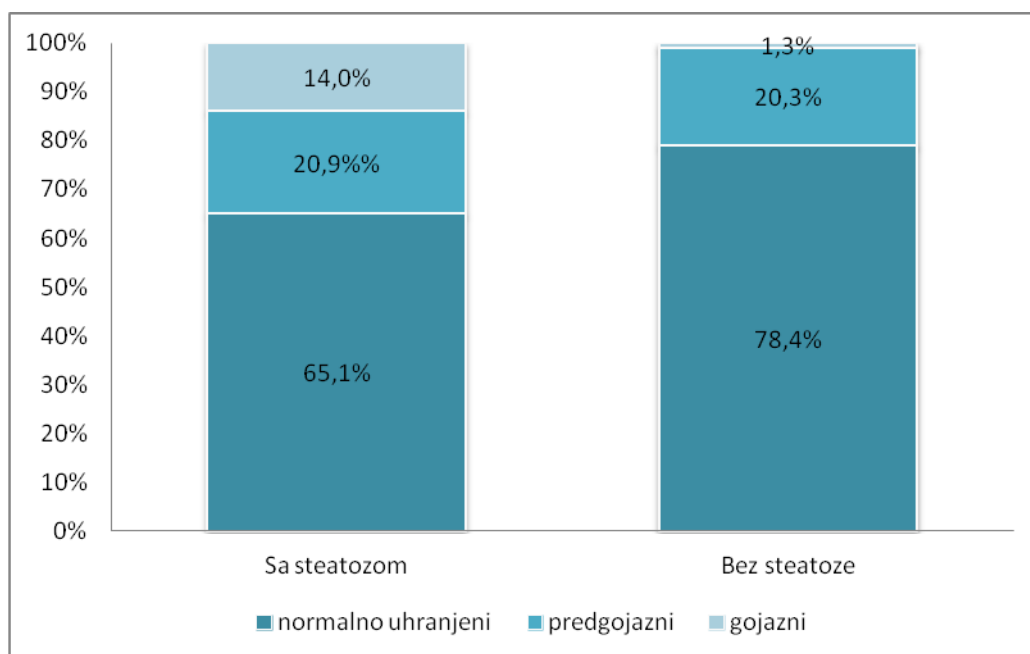
Ispitanike sa steatozom jetre je srednja vrednost BMI svrstavala u grupu predgojaznih osoba, dok je osobe bez steatoze srednja vrednost BMI svrstavala u normalno uhranjenih osoba. Razlika u srednjoj vrednosti BMI za obe grupe ispitanika je prikazana na grafikonu 12.

Grafikon 12. BMI kod osoba sa steatozom i bez nje



Kada se na osnovu BMI ispitanici podele na grupu normalno uhranjenih, predgojaznih i gojaznih, vidi se da u grupi sa steatozom jetre ima manje normalno uhranjenih osoba (28/43 ili 65,12% vs 62/79 ili 78,48%), da ima veći broj gojaznih (6/43 ili 13,95% vs 1/79 ili 1,26%), dok je učešće predgojaznih osoba u obe grupe podjednako (9/43 ili 20,93% vs 16/79 ili 20,25%). Međutim, nije nađena statistički značajna razlika između posmatranih grupa ($\chi^2=8,492$, $p<0,05$).

Grafikon 13. Učešće kategorija BMI



Analizom broja **trombocita** nađeno je da je prosečan broj trombocita u grupi ispitanika sa steatozom bio $222,0 \times 10^9/l$, što je bilo u granicama normalnih vrednosti i nije bilo statistički značajno različito od broja trombocita u ispitanika bez steatoze ($232,9 \times 10^9/l$, $t=0,861$, $p>0,05$).

Tabela 9. Broj trombocita

Steatoza	N	\bar{X} ($\times 10^9/l$)	SD	Min. ($\times 10^9/l$)	Max. ($\times 10^9/l$)
nema	80	232,99	61,440	92	394
ima	43	222,0	77,530	88	414
Ukupno	123	229,15	67,390	88	414

Srednja vrednost **glikemije** u grupi sa steatozom je bilo mešto viša u odnosu na glikemiju grupe ispitanika bez steatoze (5,38 mmol/l vs 5,03 mmol/l) , ali bez statističke značajnosti ($t=-1,511$, $p>0,05$).

Tabela 10. Vrednost glikemije

Steatoza	N	\bar{X} (mmol/l)	SD	Minimum (mmol/l)	Maksimum (mmol/l)
nema	80	5,029	1,0766	3,70	6,40
ima	43	5,380	1,4292	3,90	5,90
Ukupno	123	5,049	1,0142	3,70	6,40

Srednja vrednost ukupnog **bilirubina** u krvi ispitanika sa steatozom jetre bila je 12,37 mmol/l , neznatno više u odnosu na ispitanike bez steatoze (11,50 mmol/l), što nije bilo statistički značajno različito ($t=-0,976$, $p>0,05$).

Tabela 11. Vrednost ukupnog bilirubina

Steatoza	N	\bar{X} (mmol/l)	SD	Min.(mmol/l)	Max.(mmol/l)
nema	80	11,50	4,189	4	26
ima	43	12,37	5,593	6	33
Ukupno	123	11,80	4,723	4	33

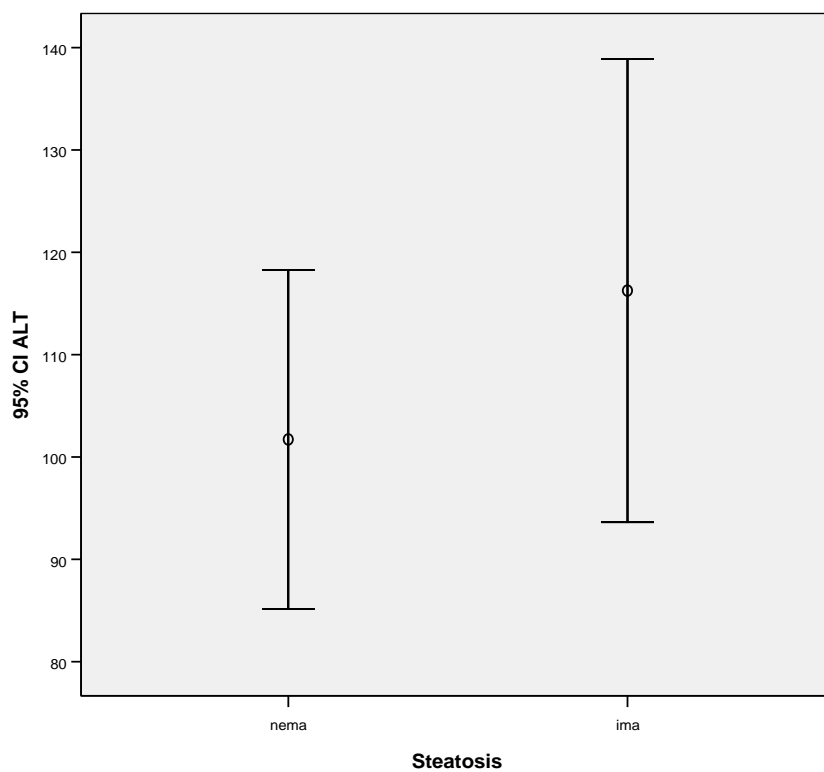
Srednja vrednost aktivnosti **ALT** u grupi sa steatozom je bila viša u odnosu na grupu ispitanika bez steatoze 116,26 U/l vs 101,71 U/l , što iznosi oko 3 puta više u odnosu na gornju granicu referentnih vrednosti.

Tabela 12. Srednja vrednost ALT u obe grupe ispitanika

Steatoza	N	\bar{X} (U/l)	SD	Min.(U/l)	Max.(U/l)
nema	80	101,71	74,385	29	401
ima	43	116,26	73,528	49	396
Ukupno	123	106,80	74,112	29	401

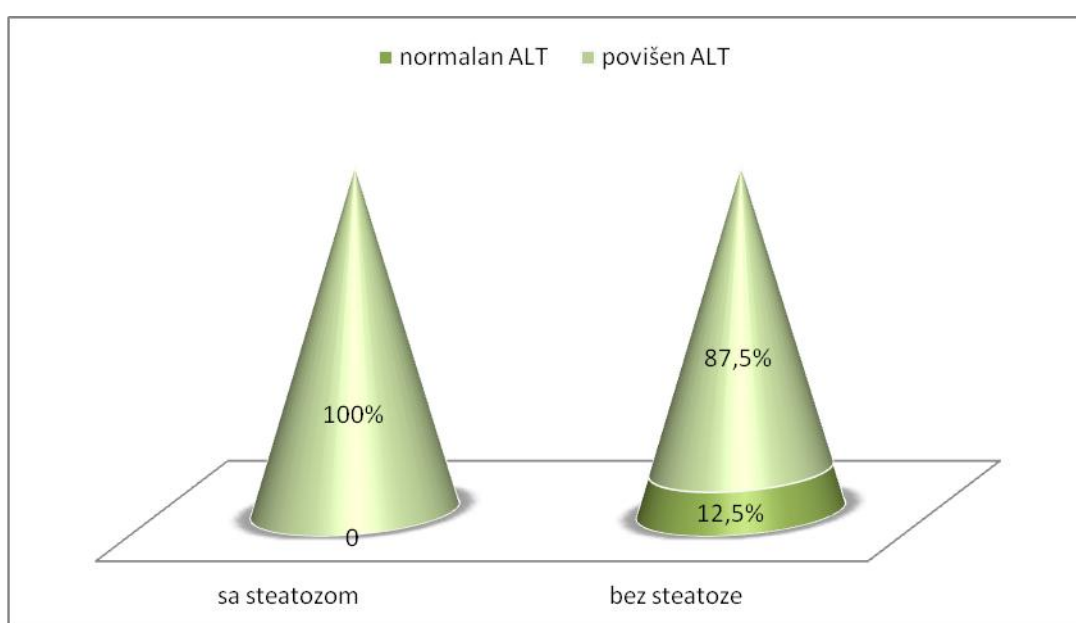
Međutim, iako je srednja vrednost aktivnosti ALT kod ispitanika sa steatozom bila viša u odnosu na ispitanike bez steatoze, nije nađena statistički značajna razlika u srednjim vrednostima ALT između posmatranih grupa ($t=-1,038$, $p>0,05$).

Grafikon 14. Srednja vrednost aktivnosti ALT



Posmatrajući vrednosti ALT u odnosu na referentnu vrednost , nađeno je da svi pacijenti sa steatozom imaju patološku aktivnost ALT (43/43 ispitanika tj. 100%). U grupi bez steatoze je 12,50% ispitanika (10/80) imalo normalnu vrednost ALT, a patološku 87,50% (70/80 ispitanika), što je statistički značajna razlika (Fisher test, $p < 0,05$).

Grafikon 15. Odnos ispitanika sa povišenom ALT



Srednja vrednost **AST** u grupi bolesnika sa steatozom je bila 59,67 U/l, što je bilo nešto više u odnosu na prosečnu vrednost u grupi bez steatoze , gde je bila 56,74 U/l, ali ova razlika nije bila statistički značajna ($t = -0,422$, $p > 0,05$).

Tabela 13. Srednja vrednost AST

Steatosis	N	\bar{X} (U/l)	SD	Min.(U/l)	Max.(U/l)
Nema	80	56,74	38,135	3	272
Ima	43	59,67	34,241	23	176
Ukupno	123	57,76	36,706	3	272

Zastupljenost ispitanika koji su imali patološku aktivnost AST u odnosu na one sa normalnim vrednostima AST, nije bio statistički značajno različit u grupi sa steatozom u odnosu na grupu bez nje (Fisher test, $p > 0,05$). U grupi ispitanika sa steatozom 69,77% (30/43 ispitanika) je imalo povišen AST, dok je u grupi ispitanika bez steatoze 60,00% (48/80 ispitanika) imalo povišenu AST.

Srednja vrednost **GGT** je u grupi ispitanika sa steatozom bila nešto viša u odnosu na grupu bez steatoze i iznosila je 73,49 U/l, dok je u grupi bez steatoze prosečna vrednost GGT bila 70,21 U/l. Ova razlika nije bila statistički značajna ($t = -0,346$, $p > 0,05$).

Tabela 14. Srednja vrednost GGT

Steatosis	N	\bar{X} (U/l)	SD	Min.(U/l)	Max.(U/l)
nema	80	70,21	48,387	1	312
ima	43	73,49	53,121	2	260
Ukupno	123	71,36	49,900	1	312

U grupi ispitanika sa steatozom jetre 58,15% ispitanika (25/43) je imalo povišenu vrednost GGT, dok je u grupi bez steatoze jetre povišenu GGT imalo 46,25% ispitanika (37/80), a ta razlika nije bila statistički značajna (Fisher test, $p>0,05$).

Srednja vrednost **alkalne fosfataze** u grupi ispitanika sa steatozom jetre je bila 91,51 U/l (SD±18,7330, a u grupi ispitanika bez steatoze 90,75 U/l (SD±13,351), što nije bilo statistički značajno različito ($t=-0,261$, $p>0,05$).

Srednja vrednost **alfa-fetoproteina** je u grupi ispitanika sa steatozom jetre je bila 4,54 IU/ml (SD±7,469), što je bilo nešto više u odnosu na izračunatu srednju vrednost u grupi bez steatoze 3,41 IU/ml (SD±2,731), ali ta razlika nije bila statistički značajna ($t=-1,221$, $p>0,05$).

Srednja vrednost **albumina** u serumu ispitanika u grupi sa steatozom jetre je iznosila 47,23 g/l (SD±3,265), a u grupi ispitanika bez steatoze jetre 45,99 g/l (SD±3,247), što nije bila statistički značajna razlika ($t=-1,224$, $p>0,05$).

Srednja vrednost **protrombinskog vremena** u grupi ispitanika sa steatozom jetre je iznosila 1,0060 (SD±0,103), a u grupi ispitanika bez steatoze 1,0341 (SD±0,104), što nije bila statistički značajna razlika ($t=1,430$, $p>0,05$).

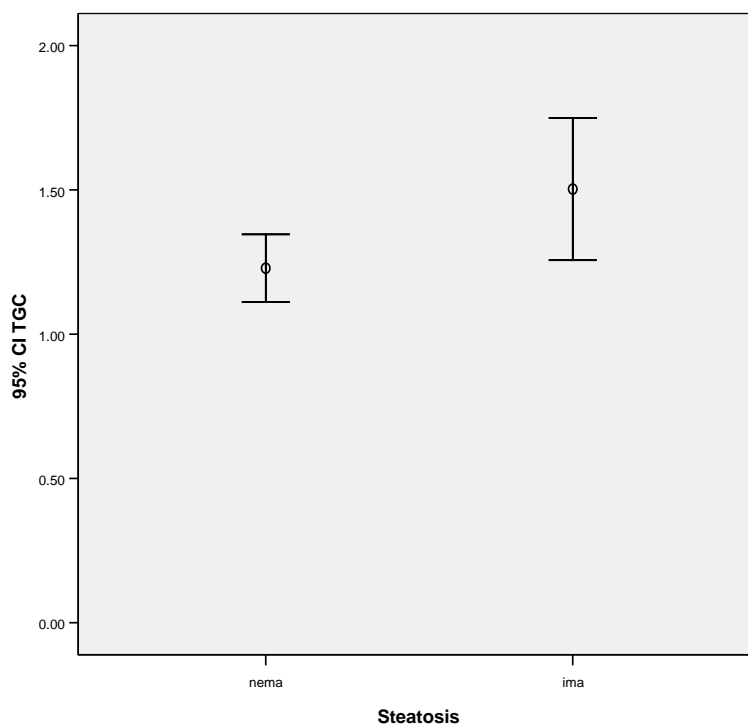
Zabeležena srednja vrednost **triglicerida** u grupi ispitanika sa steatozom jetre je bila 1,503 mmol/l što je bilo više u odnosu na srednju vrednost triglicerida u grupi bez steatoze jetre, 1,228 mmol/l. Ova razlika je statistički značajna ($t=-2,286$, $p<0,05$).

Tabela 15. Srednja vrednost triglicerida u serumu

Steatosis	N	\bar{X} (mmol/l)	SD	Min.(mmol/l)	Max.(mmol/l)
nema	80	1,228	0,527	0,42	2,62
ima	43	1,503	0,791	0,47	3,67
Ukupno	123	1,323	0,641	0,42	3,67

Odnos srednje vrednosti triglicerida u serumu ispitanika sa i bez steatoze jetre je prikazan na grafikonu 16.

Grafikon 16. Odnos srednje vrednosti triglicerida u serumu



Srednja vrednost **ukupnog holesterola** u serumu ispitanika sa steatozom jetre je iznosila 5,00 mmol/l , što je bilo unutar granica normalnih vrednosti i nije bilo statistički značajno različito u odnosu na ispitanike grupe bez steatoze, gde je iznosila 4,74 mmol/l ($t=-1,445$, $p>0,05$).

Tabela 16. Srednja vrednosti ukupnog holesterola u serumu

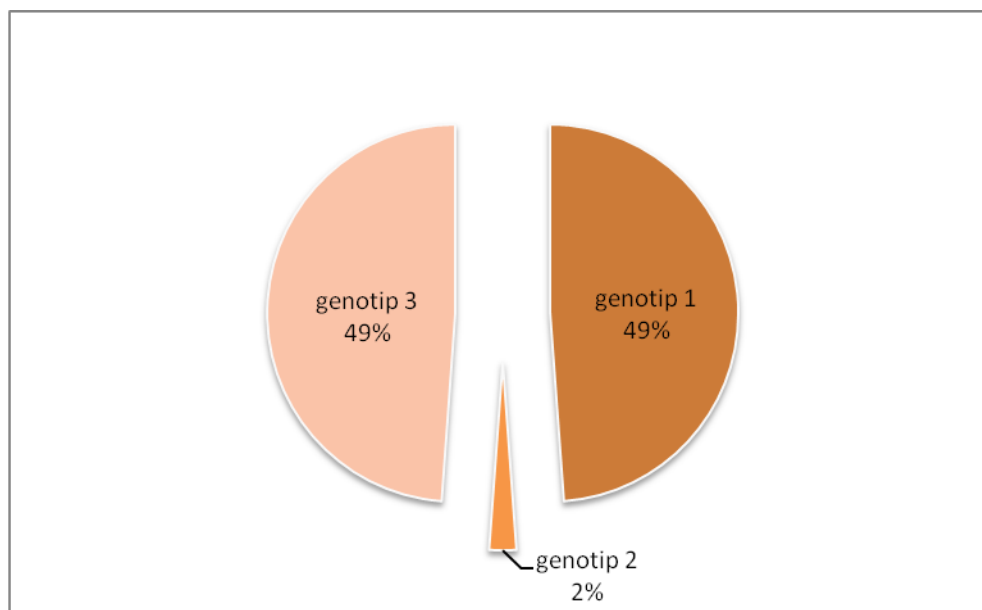
Steatosis	N	\bar{X} (mmol/l)	SD	Min.(mmol/l)	Max.(mmol/l)
nema	80	4,74	0,837	2,22	7,21
ima	43	5,00	1,160	2,53	7,12
Ukupno	123	4,83	0,964	2,22	7,21

Srednja vrednost **HDL-holesterola** u grupi isiptanika sa steatozom jetre je iznosila 1,166 mmol/l ($SD\pm 0,305$), a u grupi ispitanika bez steatoze jetre 1,202 mmol/l ($SD\pm 0,278$), što je bilo ispod referentnih vrednosti i bez statistički značajne razlike ($t=0,507$, $p>0,05$).

Srednja vrednost **LDL-holesterola** u serumu ispitanika sa steatozom jetre je iznosila 3,157 mmol/l ($SD\pm 1,036$), dok je u grupi bez steatoze jetre iznosila 3,037 mmol/l ($SD\pm 0,813$), što je u oba slučaja bilo u granicama normalnih vrednosti i nije predstavljalo statistički značajnu razliku ($t=-0,543$, $p>0,05$).

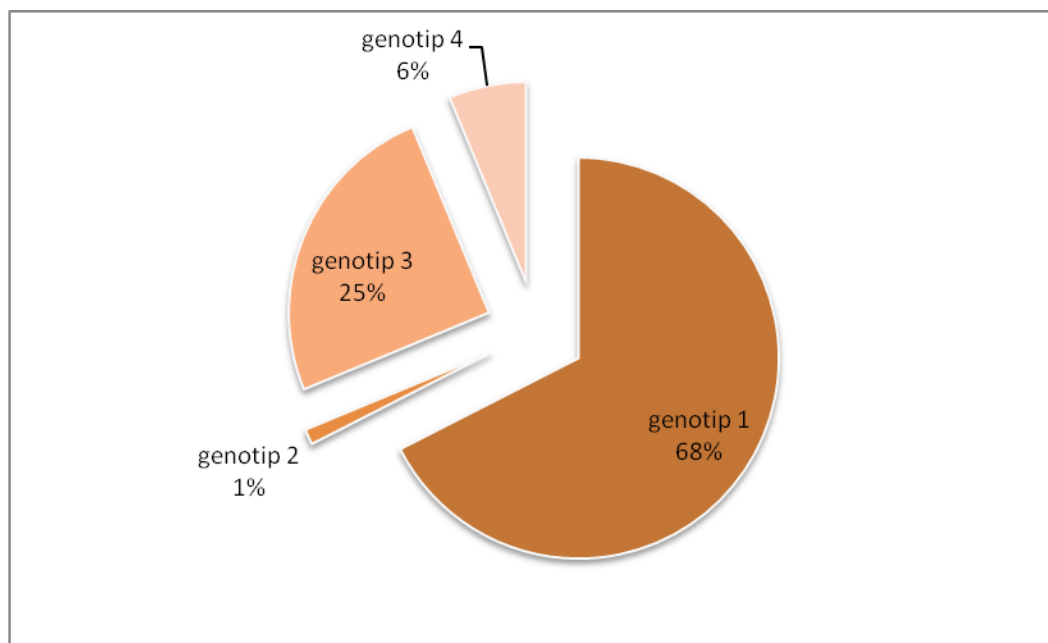
Analiza učešća pojedinih **genotipova HCV** kod ispitanika sa steatozom jetre pokazala je jednako učešće genotipa 1 i genotipa 3 koji su nađeni kod 21 ispitanika (48,84% , 21/43) , dok je kod jednog bolesnika nađen genotip 2 (2,32%, 1/43). Genotip 4 HCV nije nađen ni kod jednog ispitanika u grupi sa steatozom jetre.

Grafikon 17. HCV genotip kod bolesnika sa steatozom



U grupi ispitanika bez steatoze jetre najzastupljeniji je bio HCV genotip 1, nađen je kod 54 bolesnika (67,50%), potom genotip 3 kod 20 osoba (25,00%), genotip 4 kod pet osoba (6,25%), dok je genotip 2 nađen kod jednog bolesnika (1,25%).

Grafikon 18.HCV genotip kod bolesnika bez steatoze



Iako je je utvrđeno veće učešće genotipa 3 HCV u grupi sa steatozom jetre u odnosu na grupu bez steatoze(48,84% vs 25,00%), nije dokazana statistički značajna razlika.

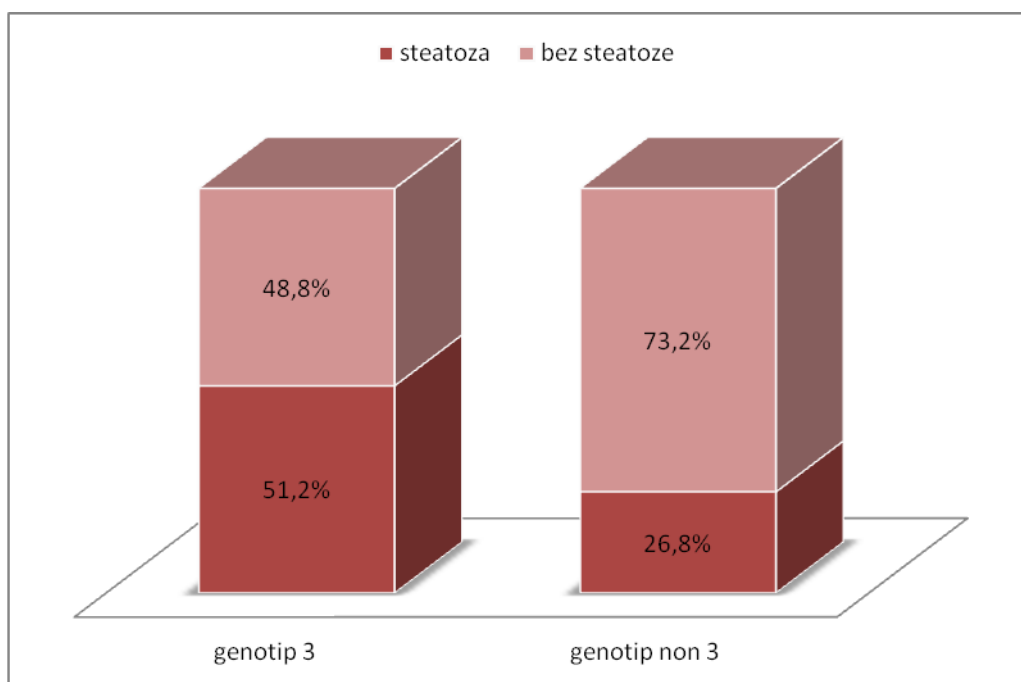
Analizom broja bolesnika sa steatozom i infekcijom sa genotipom 3 HCV u odnosu na broj bolesnika sa steatozom i infekcijom drugim HCV genotipovima (non-3), nađena je statistički značajno učestalija pojava steatoze kod bolesnika sa genotipom 3 (21/41 ili 51,22% vs 22/82 ili 26,83%, Fisher test, $p < 0,01$).

Tabela 17. Steatoza i infekcija HCV genotipom 3/non3

HCV genotip		Steatosis		Ukupno
		nema	ima	
3	n	20	21	41
	%	48,78%	51,22%	100,0%
non3	n	60	22	82
	%	73,17%	26,83%	100,0%
Ukupno	n	80	43	123

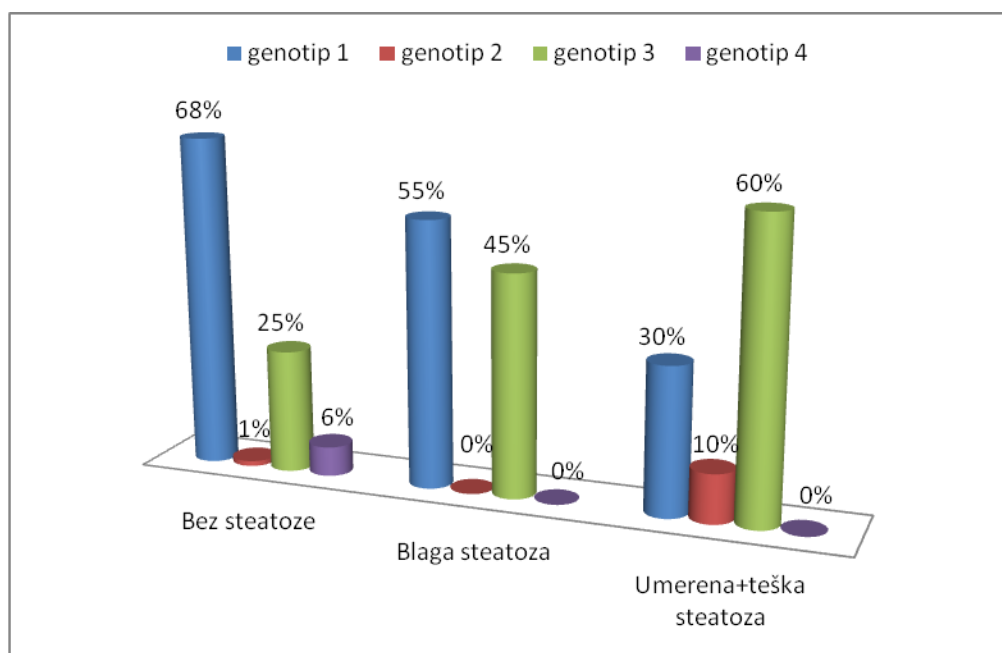
Odnos ispitanika sa i bez steatoze jetre u grupi ispitanika sa genotipom 3 i u grupi ispitanika sa genotipom non 3 HCV prikazan je na grafikonu 19.

Grafikon 19. Učešće ispitanika sa steatozom kod bolesnika sa genotipom 3/non 3



Korelacijom učešća pojedinih genotipova HCV i stepena steatoze jetre našli smo da učešće genotipa 3 HCV raste sa porastom stepena steatoze. Tako smo u grupi ispitanika bez steatoze jetre imali 20 ispitanika sa genotipom 3, što je iznosilo 25% (20/80). U grupi ispitanika sa blagom steatozom jetre bilo je 15 bolesnika sa genotipom 3, 45,45% (15/33). U grupi ispitanika sa umerenom i teškom steatozom jetre (koju smo zbog malog broja ispitanika spojili u jednu), bilo je 6 bolesnika sa genotipom 3, odnosno 60% ispitanika (6/10).

Grafikon 20. HCV genotipovi i stepeni steatoze jetre



Iako je utvrđeno da učešće genotipa 3 HCV raste sa povećanjem stepena steatoze, nije dokazana statistički značajna razlika. Kada smo rezultate prikazali tako što smo genotipove HCV 1,2 i 4 spojili zajedno, u grupu nazvanu genotip non-3 HCV i

korelirali ga sa stepenom steatoze, ponovo smo ustanovili da učešće genotipa 3 HCV raste sa porastom stepena steatoze, što nije bio slučaj sa genotipom non-3, i sada je dobijena statistički značajna razlika ($\chi^2=7,882$, $p<0,05$).

Tabela 18. Učešće HCV genotipa 3 i non-3 u pojedinim stadijumima steatoze

Steatoza	Genotip 3	Genotip non-3	ukupno
Nema	20 (25%)	60 (75%)	80(100%)
Blaga	15 (45,45%)	18 (54,55%)	33(100%)
Umerena+teška	6 (60%)	4 (40%)	10(100%)
ukupno	41	82	123

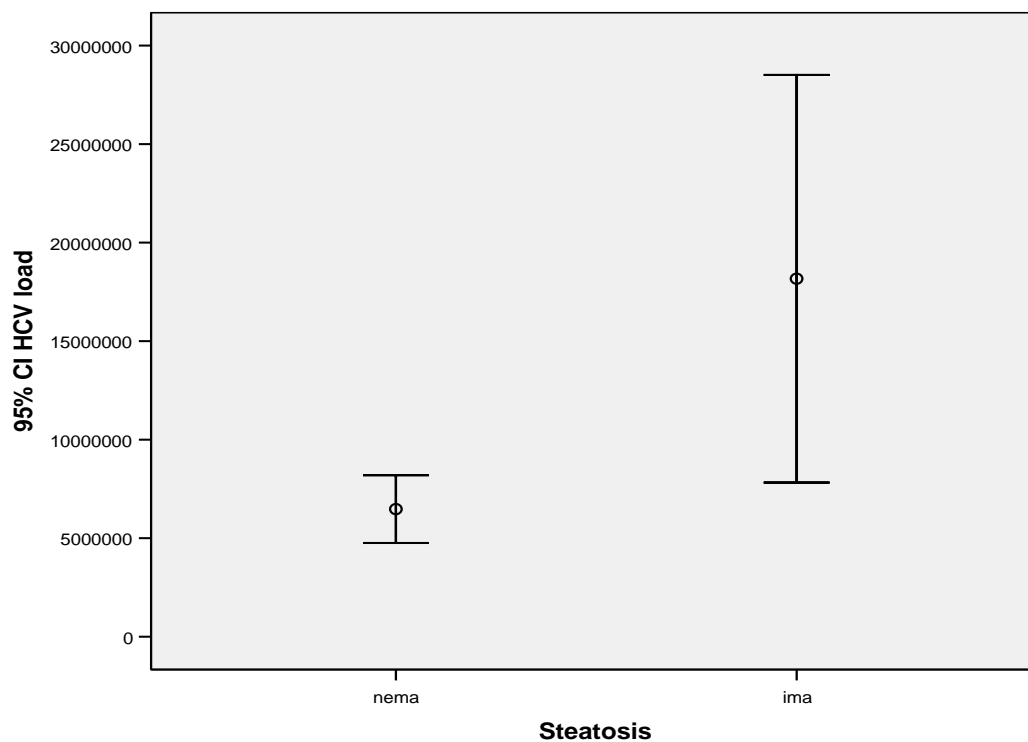
Merenjem nivoa **viremije HCV** u serumu ispitanika u grupi sa steatozom jetre, nađena je srednja vrednost broja virusnih kopija 18.168.214 cop/ml, što je bilo statistički značajno veće u odnosu na srednju vrednost broja kopija ispitanika u grupi bez steatoze jetre, 6.472.527 cop/ml ($t=-2,978$, $p<0,01$).

Tabela 19. Nivo HCV viremije

Steatosis	N	\bar{X} (cop/ml)	SD	Min.(cop/ml)	Max.(cop/ml)
nema	80	6.472.527,00	7.730.464,274	139.420	51.030.000
ima	43	18.168.214,88	33.616.314,703	79.900	196.020.000
Ukupno	123	10561263,41	21426402,960	79900	196020000

Međusobni odnos srednjih vrednosti HCV viremije u grupi ispitanika sa steatozom i u grupi bez steatoze, prikazan je na grafikonu 21.

Grafikon 21. Odnos HCV viremije u obe grupe ispitanika



Analizom srednjih vrednosti nivoa viremije HCV kod ispitanika bez steatoze, sa steatozom prvog stepena i za ispitanike sa steatozom drugog i trećeg stepena zajedno, dobijena je statistički značajna razlika među posmatranim grupama. Sa porastom stepena steatoze ,porasla je i srednja vrednost HCV viremije (Kruskal Wallis test, $\chi^2=9,492$, $p<0,01$).

Tabela 20. HCV viremija u odnosu na stepen steatoze

Steatosis	N	\bar{X} (cop/ml)	SD	Minimum (cop/ml)	Maximum (cop/ml)
nema	80	6.472.527,00	7.730.464,274	139.420	51.030.000
prvog stepena	33	13.357.267,88	20.378.006,257	79.900	86.130.000
drugog i treceg stepena	10	34.044.340,00	58.584.840,564	1.355.400	196.020.000
Ukupno	123	10.561.263,41	21.426.402,960	139.420	51.030.000

Srednja vrednost viremije HCV genotipa 3 u grupi ispitanika sa steatozom jetre iznosila 29.250.066 cop/ml, što je statistički značajno više u odnosu na srednju viremiju HCV genotipa 3 u grupi ispitanika bez steatoze, 8.346.021 cop/ml ($t=2,207$, $p<0,05$). To nije bio slučaj sa viremijom HCV genotipa non-3, gde je konstatovana mala razlika u prosečnoj viremiji ovog genotipa (7.590.083 vs 5.848.029 cop/ml), koja se nije pokazala statistički značajnom.

Tabela 21. Viremija HCV genotipa 3 u obe grupe ispitanika

Genotip	Ima steatozu	Nema steatozu	Ukupno
3	N=21 $\bar{X} = \mathbf{29.250066}$	N=20 $\bar{X} = \mathbf{8.346.021}$	N=41 $\bar{X} = 19.052971$
Non 3	N=22 $\bar{X} = \mathbf{7.590.083}$	N=60 $\bar{X} = \mathbf{5.848.029}$	N=82 $\bar{X} = 6.316908$
Ukupno	N=43 $\bar{X} = 18.168.214$	N=80 $\bar{X} = 6.472.527$	N=123 $\bar{X} = 10.561263$

Odnos broja virusnih partikula u serumu bolesnika sa infekcijom genotipom 3 HCV i stepena steatoze, pokazuje da sa porastom stepena steatoze raste nivo viremije. Korelacija je statistički značajna (ANOVA, $F=3,36$, $p<0,05$).

Tabela 22. Srednja vrednosti viremije genotipa 3 HCV u pojedinim stepenima steatoze

	N	\bar{X} (10^6 cop/ml)	SD	Minimum (10^6 cop/ml)	Maximum (10^6 cop/ml)
Bez steatoze	20	8,3	12,0	0,15	51,0
Blaga steatoza	15	21,9	27,2	0,54	86,1
Umerena+ teška steat.	6	47,3	74,7	1,35	196,0
Ukupno	41	19,0	34,7	0,15	196,0

Zbirno gledajući od svih ispitivanih prediktivnih faktora za steatozu jetre, statistički značajnost u njenoj pojavi su imali povišen **BMI**, povišena **ALT**, povišeni **trigliceridi**, **HCV genotip 3**, i **HCV viremija**. Kada su svi pomenuti faktori uzeti u obzir prilikom izračunavanja multivarijantne logističke regresije, dobijeno je da statistički značajno doprinose steatozi jetre povišen **BMI**, **HCV genotip 3** i **HCV viremija**. Rezultati multivarijantne logističke regresije prediktivnih faktora za nastanak steatoze jetre su prikazani u tabeli 23.

Tabela 23. Prediktivni faktori za nastanak steatoze

	Koeficijent regresije	OR	95% CI	p
BMI	0,364	1,439	1,175-1,761	0,000
HCV load	0,000	1,0	1,0-1,0	0,025
HCV genotip 3	0,043	1,113	1,053-1,100	0,010

Indeks histološke aktivnosti (**HIA score**) kod ispitanika sa steatozom jetre se nije bitno razlikovao u odnosu na ispitanike bez steatoze jetre (Mann-Whitney U=1687, $p>0,05$). Srednja vrednost indeksa histološke aktivnosti u obe grupe ispitanika je prikazana na tabeli 24.

Tabela 24. Indeks histološke aktivnosti u obe grupe ispitanika

Steatosis	N	\bar{X}	SD	Minimum	Maximum
nema	80	3,91	1,561	1	7
ima	43	3,95	1,647	1	8
Ukupno	123	3,93	1,585	1	8

Patohistološki nalaz **fibroze jetre** u grupi ispitanika sa steatozom jetre nije registrovan kod 23,25% bolesnika (10/43), 65,11% bolesnika je imao znake blage fibroze (28/43), dok je 11,64% bolesnika (5/43) imalo znake teške fibroze jetre. U grupi ispitanika bez steatoze jetre nađen je sličan odnos : bez fibroze 22,50% bolesnika (18/80), blaga fibroza kod 63,75% bolesnika (51/80), a 13,75% ispitanika (11/80) je imalo znake teške fibroze jetre. Nije nađena

statistički značajna razlika u učešću ispitanika sa fibrozom jetre između posmatranih grupa (Fisher test, $p > 0,05$).

Tabela 25. Steatoza i stepeni fibroze jetre

Fibroza		Steatoza		Ukupno
		nema	ima	
0 bez	n	18	10	28
	%	22,50%	23,25%	22,76%
1-2 blaga	n	51	28	79
	%	63,75%	65,11%	64,22%
3-4 teška	n	11	5	16
	%	13,75%	11,64%	13,01%
Ukupno	n	80	43	123
	%	100%	100%	100%

5.5. Uticaj steatoze na uspeh antivirusnog lečenja (SVR)

Uspeh kombinovane antivirusne terapije (pegilovani interferona alfa-2a + ribavirin) meren postizanjem stabilnog virusološkog odgovora, određivan je kod ukupno 92 ispitanika. Kod 75,00% bolesnika (69/92) je lečenje bilo uspešno i postignut je SVR.

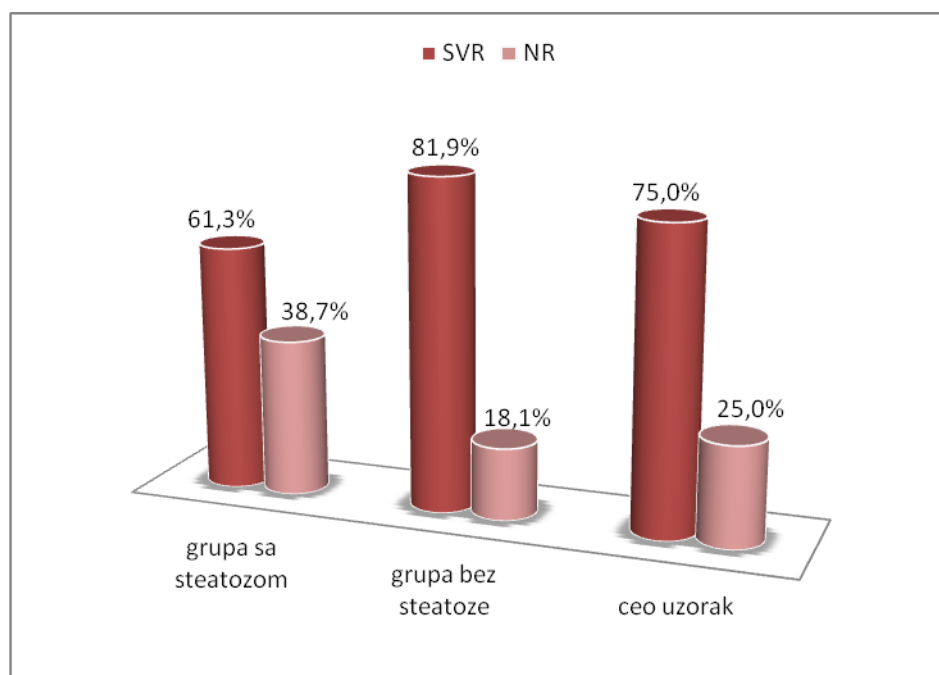
U grupi ispitanika sa steatozom jetre SVR je postignut kod 61,29% bolesnika (19/31), dok je kod bolesnika bez steatoze jetre SVR postignut kod 81,95% pacijenata (50/61).

Tabela 26. Uspeh terapije

	SVR (broj bolesnika)	Non responder (broj bolesnika)	Ukupno (broj bolesnika)
Sa steatozom	19 (61,29%)	12 (38,71%)	31 (100%)
Bez steatoze	50 (81,96%)	11 (18,04%)	61 (100%)
Ukupno	69 (75,00%)	23 (25,00%)	92 (100%)

Razlika u postizanju SVR grupe ispitanika sa steatozom (61,29%) i grupe bez steatoze (81,96%) se pokazala statistički značajnom (Fisher test, $p=0,042$).

Grafikon 22. Uspeh terapije (SVR)

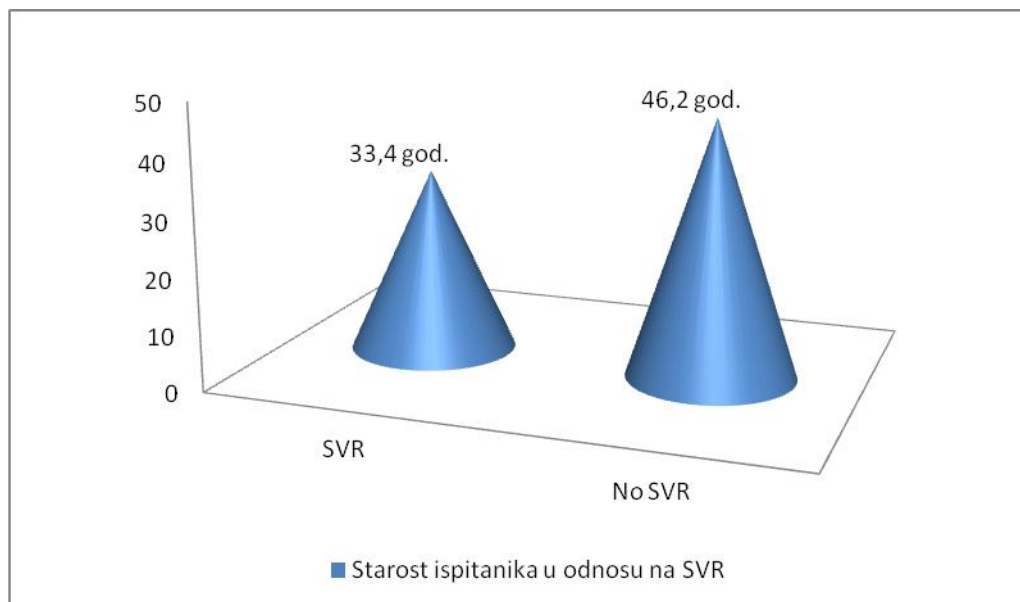


5.6.Uticaj demografskih, biohemijskih, virusoloških i patohistoloških faktora na SVR

Od uobičajenih prediktivnih faktora za postizanje SVR PegIFN i Ribavirinom, **pol** ispitanika se nije pokazao statistički značajnim (Fisher test, $p=0,292$). SVR je postiglo 78,46% bolesnika muškog pola (51/65) i 33,33% bolesnika ženskog pola (18/27).

Što se **starosti** ispitanika tiče, pacijenti koji su postigli SVR su bili statistički značajno mlađi ($\bar{X}=33,42$ god., $SD\pm 10,48$) u odnosu na one koji nisu postigli SVR ($\bar{X}=46,17$ god., $SD\pm 12,20$) (t test, $p=0,000$).

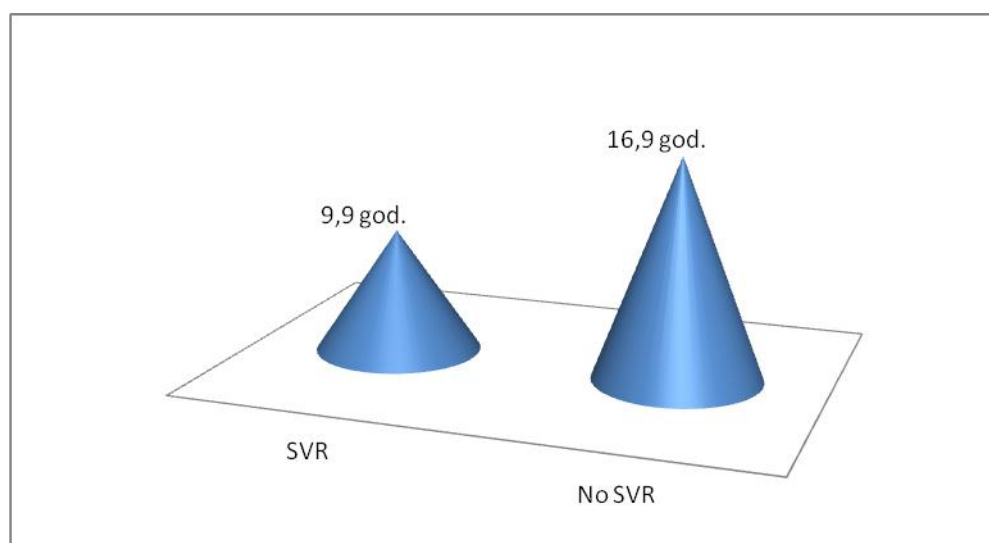
Grafikon 23.Starost ispitanika i SVR



Iako su ispitanici koji su postigli SVR imali niži **BMI** ($\bar{X}=24,17 \text{ kg/m}^2$, $SD\pm 2,48$) u odnosu na BMI kod onih koji SVR nisu postigli ($\bar{X}=25,16 \text{ kg/m}^2$, $SD\pm 2,16$), ova razlika se nije pokazala statistički značajnom (t test, $p=0,092$).

Što se **dužine trajanja infekcije** tiče, prosečna dužina trajanja HCV infekcije kod ispitanika koji su postigli SVR je iznosila 9,9 godina ($\bar{X}=9,90$ godina, $SD\pm 8,75$), što je bilo statistički značajno kraće (t test, $p=0,004$) u odnosu na dužinu trajanja infekcije kod ispitanika koji nisu postigli SVR ($\bar{X}=16,87$ godina, $SD\pm 12,79$).

Grafikon 24. Dužina trajanja infekcije i SVR



Od **biohemijskih parametara** koji su praćeni kao mogući prediktori uspešnog ishoda antivirusne terapije i postizanja SVR (glikemija, bilirubinemija, ALT, AST, GGT, alkalna fosfataza, trigliceridemija, ukupna holesterolemija), ni jedan se nije u našem istraživanju pokazao statistički značajan za postizanje SVR .

Od virusoloških obeležja koji utiču na postizanje SVR, izučavani su **genotip** virusa i viremija HCV. Kada se ceo uzorak podeli na ispitanike sa genotipom 3 i genotipom non-3 (HCV genotip 1,2 i 4), dobija se statistički značajna razlika u postizanju SVR u korist grupe ispitanika sa genotipom 3 (χ^2 test, $p=0,049$). SVR je u grupi sa genotipom 3 postignut u 88,46% (23/26) ispitanika, a u grupi ispitanika sa genotipom non-3 u 69,70% ispitanika (46/66).

Tabela 27. Uspeh lečenja u odnosu na genotip HCV

Genotip		SVR		Ukupno
		ima	nema	
3	n	23	3	26
	%	88,46%	11,54%	100,0%
non 3	n	46	20	66
	%	69,70%	30,30%	100,0%
Ukupno	n	69	23	92
	%	75,00%	25,00%	100,0%

Kada je SVR analiziran kod 11 bolesnika sa steatozom i infekcijom HCV genotipom 3, utvrđeno je postizanje SVR u 81,81% ispitanika (9/11). U grupi 15 bolesnika sa genotipom 3 bez steatoze SVR je postignut u 93,33% ispitanika (14/15), što se nije pokazalo statistički značajno različitim (Fisher test, $p>0,05$). U grupi ispitanika sa genotipom non-3 i steatozom SVR je postignut u 50,00% ispitanika (10/20), a u grupi

ispitanika sa genotipom non-3 bez steatoze SVR je postignut u 78,26% ispitanika (36/46), što takođe nije statistički značajno različito (Fisher test, $p>0,05$).

Tabela 28. SVR u odnosu na genotip HCV i postojanje steatoze

Genotip		SVR		Ukupno
		ima	nema	
3	Sa steatozom	N=9 81,82%	N=2 18,18%	N=11 100,00%
	Bez steatoze	N=14 93,33%	N=1 6,64%	N=15 100,00%
non 3	Sa steatozom	N=10 50,00%	N=10 50,00%	N=20 100,00%
	Bez steatoze	N=36 78,26%	N=10 21,74%	N=46 100,00%
Ukupno	Sa steatozom	N=19 61,29%	N=12 38,71%	N=31 100,00%
	Bez steatoze	N=50 81,97%	N=11 18,03%	N=61 100,00%

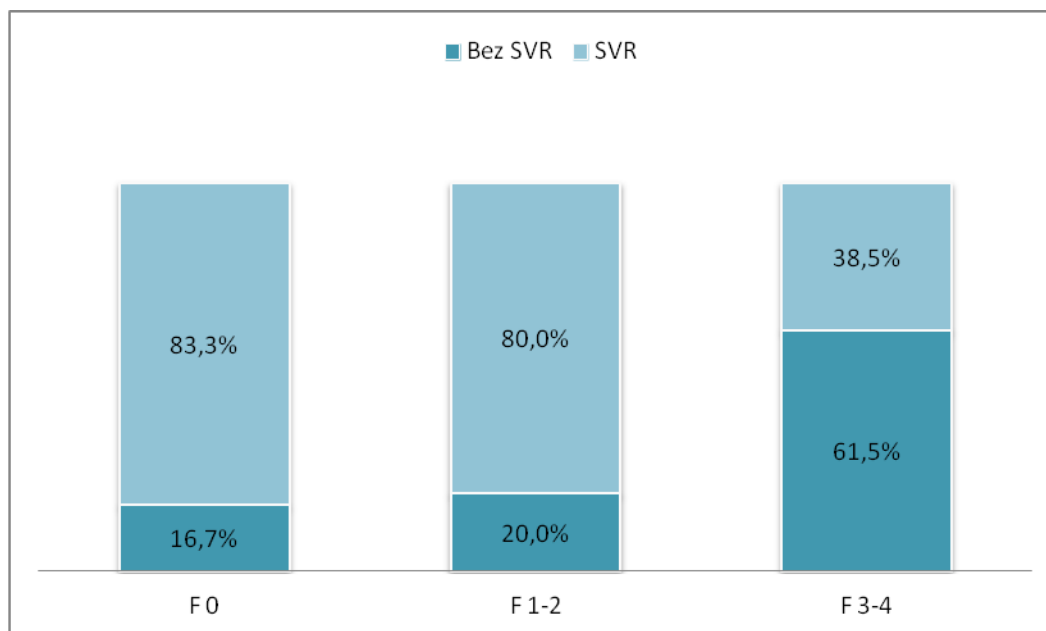
Analizom SVR u odnosu na **viremiju HCV** manju ili veću od 800.000 cop/ml kod svih bolesnika bez obzira na prisustvo steatoze i infekciju pojedinim genotipovima

HCV, nije primećena statistički značajna razlika (Fisher test, $p=0,104$). Grupa ispitanika sa HCV viremijom <800.000 cop/ml je postigla SVR u 88,46% (23/26) slučajeva , dok je grupa ispitanika sa HCV viremijom >800.000 cop/ml postigla SVR u 71,43% (55/77) slučajeva.

Indeks histološko-inflamatorne aktivnosti, **HIA score**, je bio manji u grupi ispitanika sa postignutim SVR ($\bar{X}=3,74$, $SD\pm 1,72$) , ali se nije statistički značajno razlikovao od onog u grupi bez postignutog SVR ($\bar{X}=4,61$, $SD\pm 1,69$) ($t=0,120$, $p>0,05$).

U odnosu na postojanje **fibroze** jetre i postizanja SVR, nađeno je da bolesnici bez fibroze (F0) imaju SVR u 83,33% (20/24) slučajeva , bolesnici sa blagom fibrozom (F1-2) u 80,00% (44/55) slučajeva , a sa teškom fibrozom (F3-4) u znatno manjoj meri, u 38,46% (5/13) slučajeva. Ova razlika se pokazala statistički značajnom (χ^2 test, $p=0,004$).

Grafikon 25. Fibroza jetre i SVR



Kada se svi prediktivni faktori za postizanje SVR (starost, dužina trajanja infekcije, genotip 3, prisustvo steatoze i prisustvo fibroze) posmatraju u multivarijantnoj logističkoj regresionoj analizi, izdvajaju se dva faktora, **starost ispitanika** i prisustvo **fibroze** koji statistički značajno doprinose postizanju SVR. Rezultati multivarijantne logističke regresione analize za postizanje SVR su prikazani na tabeli 30.

Tabela 29. Multivarijantna logistička regresija za SVR

	Koeficijent regresije	OR	95% CI	p
Age	-0,080	0,923	0,874-0,975	0,004
Fibrosis	1,830	6,236	0,758-28,089	0,018

6.DISKUSIJA

6.1.Prevalenca steatoze u hepatitisu C

Udruženost steatoze jetre i hronične hepatitis C virusne infekcije danas više nije slučajnost i poslednjih 10-tak godina stručna i naučna javnost se u velikoj meri bavila ovom problematikom. Prevalenca steatoze jetre udružene sa hroničnom hepatitis C virusnom infekcijom za 2-3 puta prevazilazi prevalencu steatoze jetre kada se ona javlja sama. Prevalenca steatoze kod obolelih od hepatitisa C zbog nejedinstvenih kriterijuma, različitih demografskih karakteristika uzorka i različitog učešća genotipa 3 HCV, varira od 40% do 86% (prosečno oko 50%). To znatno premašuje prevalencu steatoze jetre u opštoj populaciji, za koju se smatra da iznosi oko 20-30% kod odraslih osoba SAD i Zapadne Evrope (177, 186,187). Kod hepatitis C virusne infekcije izazvane genotipom 3 HCV, prevalenca steatoze je veća i ona je izraženija nego kod drugih genotipova i povezana je sa visinom viremije HCV, te se naziva „virusna steatoza“. Steatoza jetre kod infekcije drugim genotipovima HCV (genotip 1,2,4) je povezana sa metaboličkim faktorima domaćina i pojavom insulinske rezistencije, te se naziva „metabolička steatoza“ (154). U skladu s tim, ukoliko u uzorku ima više osoba inficiranih genotipom 3 HCV, ili ako u uzorku ima više osoba sa izraženim metaboličkim faktorima kao što su gojaznost, hipertrigliceridemija, diabetes mellitus, hipertenzija, procenat nađene steatoze je veći.

Patohistološki kriterijuma za postavljanje dijagnoze steatoze se takođe razlikuju. Tako jedni prihvataju kriterijum za postojanje steatoze ako ima više od 0% ili više od 1%

hepatocita zahvaćenih masnom promenom i tako dobijaju veću prevalencu steatoze u uzorku (188,189,190), dok drugi smatraju da steatoza postoji ako je više od 5% hepatocita zahvaćeno masnom promenom i samim tim dobijaju manju prevalencu steatoze od prethodnih (191,192,193).

Na ukupnu prevalencu steatoze utiče nekoliko činilaca; broj ispitanika inficiranih genotipom 3 HCV koja daje veću učestalost steatoze u odnosu na druge genotipove, učešće ispitanika koji imaju viši BMI, odnosno veće učešće predgojaznih i gojaznih u uzorku, učešće ispitanika sa diabetes mellitusom, hipetrigliceridemijom i hipertenzijom, i patohistološki kriterijum za postavljanje dijagnoze steatoze ($>0\%$, $>1\%$ ili više od 5% hepatocita zahvaćenih masnom promenom).

U našem istraživanju prevalenca steatoze jetre kod osoba sa hroničnom hepatitis C virusnom infekcijom je iznosila 34,96% (43/123 ispitanika). Najviše ispitanika 76,74% je imalo znake blage steatoze, znake umerene steatoze je imalo 13,95%, dok je znake teške steatoze imalo 9,31% ispitanika. Dobijena prevalenca steatoze je niža u odnosu na podatke drugih autora, dok se distribucija stepena steatoze ne razlikuje, prevladava blaga steatoza gde je masnim promenama zahvaćeno 5-33% hepatocita (155,159,160,177,186).

Tako *Nieminen* sa grupom istraživača iz Helsinkija na uzorku od 510 ispitanika sa HHC nalazi steatozu jetre u 40 % bolesnika, držeći se vrlo sličnih kriterijuma kao u našoj studiji (dijagnoza steatoze postavljena biopsijom jetre, gde je granica za postavljanje dijagnoze steatoze $>5\%$ hepatocita zahvaćenih masnom promenom, isključeni pacijenti koji su konzumirali prekomernu količinu alkohola, intravenski narkomani su morali imati

minimamlnno dve godine stabilne apstinencije) (192) . Razlika u nešto većoj prevalenci u odnosu na naš rezultat (40% vs 34,9%) se može objasniti većim učešćem genotipa 3 HCV u pomenutoj studiji (45% vs 33%). Zna se da genotip 3 HCV u većoj meri izaziva steatozu jetre od ostalih genotipova zbog njegovog direktnog steatogenog dejstva . U pomenutom istraživanju je slično kao i u našoj studiji najviše ispitanika imalo znake blage steatoze (83% vs 77%).

Grupa američkih istraživača koji je predvodio *Perumalswami* iz Betezde (193), u studiji kojom je obuhvaćeno 494 ispitanika sa HHC, primenjujući vrlo slične kriterijume, nalazi prevalencu steatoze od 39,6%. Pacijenti u pomenutom istraživanju su imali nešto veći prosečan BMI nego u našem istraživanju (28,56 kg/m² vs 24,37 kg/m²), bili su stariji (44 god. vs 36 god.) te je samim tim dejstvo metaboličkih fakotra na steatozu jetre bilo izraženije nego u našem uzorku. Time bi se mogla objasniti nešto manja prevalenca steatoze u našem istraživanju (34,9%), uprkos manjem učešću genotipa 3 u pomenutom istraživanju (svega 5%).

Jedan od najcitiranijih autora u ovoj oblasti *Rubbia-Brandt* sa grupom istraživača iz Ženeve u dva rada (194,195) nalazi prevalencu steatoze kod HHC 43% (na uzorku od 254 pacijenta) , odnosno 41,7% (na uzorku od 755 pacijenata), što je približno našem rezultatu (34,9%). Patohistološki kriterijum za postavljanje dijagnoze steatoze jetre u navedenim studijama je bio $\geq 1\%$ hepatocita zahvaćenih masnom promenom.

U najvećoj multicentričnoj studiji koja je uključila 3068 bolesnika sa HHC, iz nekoliko centara u Italiji, Australiji, Francuskoj, SAD i Švajcarskoj, *Leandro* i sar. su našli prisustvo steatoze jetre u 50,9% ispitanika, što je jednako prevalenci

najvećeg broja studija (196). I ovde je, u odnosu na naše istraživanje, upotrebljavan niži patohistološki kriterijum za postavljanje dijagnoze steatoze jetre ($\geq 1\%$ hepatocita zahvaćenih masnom promenom). Iz studije nisu isključeni pacijenti sa drugim mogućim uzrocima steatoze jetre (sa diabetes melitusom, prekomernom konzumacijom alkohola), te bi se na taj način mnoga objasniti razlika u većoj prevalenci steatoze u odnosu na našu studiju.

Iz našeg okruženja dostupno nam je bilo nekoliko radova iz Rumunije, u kojima je nađena mnogo veća prevalenca steatoze jetre kod pacijenata sa HCV infekcijom. U radu *Fierbinteanu-Braticevici* i saradnika iz Bukurešta, na maloj grupi od 50 pacijenata inficiranih genotipom 1 HCV, nađena je prevalenca steatoze 57% (197). I ovde su primenjeni niži patohistološki kriterijuma za postavljanje dijagnoze steatoze ($\geq 1\%$ hepatocita zahvaćenih masnom promenom), prosečna starost pacijenata je bila 45 god., 1/3 pacijenata je imala znake metaboličkog sindroma, dok nema evidencije koliko je pacijenata konzumiralo prekomernu količinu alkohola, što je sve moglo uticati na veću prevalencu steatoze.

6.2. Predisponirajući faktori za nastanak steatoze u hepatitisu C

Predisponirajući faktori za nastanak steatoze u HCV infekciji se dele na one koje su porekla domaćina i na one koje su porekla samog hepatitis C virusa. Što se tiče faktora vezanih za domaćina, to su oni isti faktori koji mogu dovesti do nastanka steatoze jetre u okviru nealkoholne masne bolesti jetre (NAFLD) i koji nemaju veze sa hroničnom HCV infekcijom. U ove faktore spadaju gojaznost, posebno visceralna gojaznost koja se iskazuje povišenim indeksom telesne mase i obimom trbuha, hiperlipidemije, tip 2

diabetes mellitusa, insulinska rezistencija (metabolički sindrom) i prekomerna konzumacija alkohola. Ponegde se i starost bolesnika pominje kao prediktivni faktor za nastanak steatoze, ali nisu svi istraživači u tome saglasni. Ovi predisponirajući faktori su kod hepatitisa C najčešće udruženi sa genotipom 1 HCV (genotipom non-3), a obzirom da imaju veze sa metaboličkim sindromom, steatoza koju oni izazivaju se naziva „metabolička steatoza“.

Virusni faktori koji predisponiraju nastanak steatoze kod pacijenata sa HCV infekcijom se odnose na sam virus hepatitisa C i to isključivo na genotip 3 HCV, za koji je dokazano da ima direktno steatogeno dejstvo na jetru. Ova vrsta steatoze se naziva „virusna“, u direktnoj je korelaciji sa nivoom virusne RNA u jetri i serumu i povlači se nakon uspešne antivirusne terapije (166,167,177,186).

Moguća je i kombinacija virusnih i metaboličkih faktora kada se kod iste osobe nađu hronična hepatitis C virusna infekcija izazvana genotipom 3 i prisustvo nekog od metaboličkih faktora kao što su gojaznost, dijabetes, hiperlipidemija.

U našem istraživanju dobijena je statistička značajnost prediktivnih faktora za nastanak steatoze: povišen BMI, patološka aktivnost ALT, povišeni trigliceridi, prisustvo HCV genotipa 3 i nivo HCV RNA viremije. Kada su svi pomenuti faktori uzeti u obzir zajedno prilikom izračunavanja multivarijantne logističke regresije, ostali su kao statistički značajni prediktori steatoze povišen BMI, prisustvo genotipa 3 HCV i nivo HCV RNA viremije. Ovakav rezultat je u skladu sa rezultatima većine istraživanja (186, 189,191,198, 199, 200).

U jednom od prvih radova na temu HHC i steatoze *Hourigan* i saradnici iz Brizbejna u Australiji, na uzorku od 148 pacijenata sa hroničnom HCV infekcijom nalaze značajnu ulogu gojaznosti u nastanku steatoze u hroničnom hepatitisu C (201). U njihovom istraživanju postoji velika statistička značajnost povezanosti porasta BMI i stepena steatoze. Prosečan BMI u grupi ispitanika bez steatoze iznosio je $23,9 \text{ kg/m}^2$, u grupi ispitanika sa blagom steatozom $26,5 \text{ kg/m}^2$ i u grupi ispitanika sa umerenom i teškom steatozom (koje su u navedenom istraživanju spojene u jednu), BMI je iznosio $28,4 \text{ kg/m}^2$. U našem istraživanju su dobijeni slični rezultati, prosečan BMI u grupi ispitanika bez steatoze jetre bio je $23,7 \text{ kg/m}^2$, u grupi sa blagom steatozom $25,8 \text{ kg/m}^2$, (bio je nešto niži u odnosu na navedenu studiju), dok je kod ispitanika sa umerenom i teškom steatozom BMI bio iznenađujuće nizak, $24,8 \text{ kg/m}^2$. U našem istraživanju nije došlo do porasta steatoze sa porastom BMI. Zaključili smo da u nastanku steatoze jetre kod naših ispitanika, nije dominantno učestvovala gojaznost niti drugi metabolički faktori, već da su u njenom nastanku veću ulogu imali virusni faktori.

Adinolfi i saradnici iz Napulja u studiji na 180 ispitanika sa HHC nalaze steatozu jetre kod 48% ispitanika udruženu sa povišenim BMI, genotipom 3a i sa višim nivoom viremije HCV. Isti autori su našli korelaciju steatoze i povišenog indeksa nekroinflamatorne aktivnosti i fibroze (200). Tako oni zaključuju da steatoza jetre, preko porasta nekroze hepatocita, merene porastom nekroinflamatorne aktivnosti, dovodi do pogoršanja toka bolesti praćenog porastom fibroze. U našem istraživanju nije dokazana korelacija steatoze sa nekroinflamatornim indeksom i stepenom fibroze, i pacijenti sa steatozom i bez nje su imali nizak HIA indeks ($3,95$ vs $3,91$) koji nije bio stastički

značajno različit, kao što nije nađena stastički značajna razlika u učešću ispitanika sa fibrozom jetre između posmatranih grupa.

U studiji *Monto* i saradnika iz San Franciska uključeno je 297 pacijenata sa HHC i prevalencom steatoze 57,6%. Ovako visoko učešće steatoze kod obolelih sa HHC se može objasniti različitim kriterijumima za uključivanje u studiju i različitim demografskim karakteristikama uzorka. Primenjen je niži patohistološki kriterijum za postavljanje dijagnoze steatoze jetre ($\geq 1\%$ vs $\geq 5\%$ hepatocita), ispitanici su konzumirali prekomerne količine alkohola (srednja vrednost konzumacije alkohola 54,3 g dnevno vs 20-40 g dnevno u našoj studiji), 7,7% pacijenata uključenih u studiju je imalo tip 2 diabetes melitus. Diabetes mellitus i prekomerna konzumacija alkohola su među najvažnijim prediktivnim faktorima za nastanak steatoze jetre i mi smo u našem istraživanju takve pacijente isključili. Srednja vrednost BMI ispitanika je bio 28,5 kg/m², što ih svrstava u kategoriju predgojaznih osoba vs 24,3 kg/m² u našoj studiji, što ih svrstava u kategoriju normalno uhranjenih osoba. Kao i u našoj studiji multivarijantnom analizom je dokazano da su jedino povišen BMI i genotip 3 HCV bili nezavisni prediktori steatoze (198).

U Francuskoj studiji *Cholet* i saradnici se osim dokaza da je steatoza signifikatno udružena sa dva riziko faktora, povišenim BMI i genotipom 3 HCV ističe da je steatoza riziko faktor za nastanak fibroze jetre, posebno u osoba sa genotipom 3 (199).

Za razliku od navedenih istraživanja, *Sharma* sa saradnicima iz Arizone, u studiji na 293 obolelih od HHC, ukazuje da je samo genotip 3 HCV nezavisan prediktorni faktor za nastanak steatoze i da steatoza izazvane genotipom 3 ne korelira sa

povišenim BMI i povišenim vrednostima triglicerida u serumu. Ovakvi rezultati istraživanja idu u prilog tezi da genotip 3 HCV ima direktno steatogeno dejstvo. U istoj studiji je donet zaključak da ne postoji korelacija između pojave steatoze i povišenog indeksa nekroinflamatorne aktivnosti ili fibroze. Genotip 3 HCV ne izaziva nastanak steatoze povećanjem nekroinflamatorne aktivnosti i sledstvenom fibrozom, već svojim direktinim dejstvom na metaboloizam lipida izaziva smanjenu sekreciju VLDL lipoproteina iz hepatocita, povećava neolipogenezu i sintezu masnih kiselina, smanjuje oksidaciju masnih kiselina, što sve zajedno dovodi do intracelularnog nakupljanja triglicerida u inficiranim hepatocitima, tj do steatoze (203).

Steatoza jetre može biti uzročno povezana sa nivoom HCV u serumu obolelih od HHC. U našem istraživanju smo registrovali stistički značajno veći nivo viremije HCV kod obolelih sa steatozom u odnosu na obolele bez steatoze ($18,1 \times 10^6$ cop/ml vs $6,4 \times 10^6$ cop/ml , $t=2,978$, $p<0,01$). Rezultat se odnosi na sve genotipove HCV zbirno (genotipove 1, 2, 3 i 4). U analizi uzročne povezanosti steatoze sa nivoom viremije i pojedinačnih genotipova potvrdili smo da je učešće genotipa 3 HCV i visina viremije u serumu obolelih sa infekcijom ovim genotipom statistički značajno veća u grupi ispitanika sa steatozom jetre ($29,2 \times 10^6$ cop/ml vs $8,3 \times 10^6$ cop/ml , $t=2,207$, $p<0,05$). Porastom stepena steatoze statistički značajno raste učešće genotipa 3 HCV i srednja vrednost broja virusnih partikula u serumu.

Poynard i saradnici su istraživali faktore udružene sa steatozom kod 1428 obolelih od HHC (204). Patohistološki kriterijum za postavljanje dijagnoze steatoze je bio $\geq 1\%$ hepatocita zahvaćenih masnom promenom. Prosečna starost bolesnika 43 godine, a BMI $27,4 \text{ kg/m}^2$. Pre uvođenja antivirusne terapije je utvrđena prevalenca

steatoze kod 65% bolesnika, velika većina bolesnika je imala blagu steatozu (do 33% zahvaćenih hepatocita). Faktori nezavisno udruženi sa steatozom u multivarijantnoj analizi ove studije su bili starost ispitanika veća od 40 god., BMI ≥ 27 kg/m², trigliceridi $\geq 1,7$ mmol/L, umerena do izražena fibroza (F 2-4) i infekcija genotipom 3 HCV. U rezultatima našeg istraživanja starost ispitanika nije bila prediktorni faktor za nastanak steatoze kod obolelih sa HHC. Razlika u starosti kao faktora za nastanak steatoze u rezultatima naše i navedene studije se može objasniti time da su naši ispitanici bili mlađi. Prosečna starost naših bolesnika je 36 god ($\frac{3}{4}$ svih ispitanika je bila mlađa od 40 god.), $\frac{2}{3}$ ispitanika su bili bivši zavisnici od psihoaktivnih substanci, populacija kod koje se HCV infekcija ranije otkriva (kod skoro $\frac{1}{2}$ ispitanika HCV infekcija je trajala 5-10 godina), te je i uticaj starosti ispitanika na nastanak steatoze bio manje izražen. Stepent fibroze kao nezavisan prediktorni faktor za steatozu jetre nije potvrđen u našem istraživanju. Razlog može biti mali uzorak i bolesnici sa manje izraženom fibrozom, fibroza F0-1 je nađena kod 59,3% naših ispitanika. Analizom trigliceremije kao faktora steatoze univarijantnom analizom nivoa triglicerida u serumu obolelih smo našli statistički značajno povišen kod ispitanika sa steatozom jetre (1,50 mmol/l u grupi sa steatozom, 1,22 mmol/l u grupi bez steatoze), ali se u multivarijantnoj analizi povišena vrednost triglicerida nije pokazala kao značajan nezavisan prediktorni faktor za nastanak steatoze.

Analizom dostupnih studija, kao i sopstvenih rezultata istraživanja, sigurni faktori udruženi sa pojavom steatoze kod HCV infekcije su BMI i genotip 3 HCV. Starost ispitanika, dužina trajanja infekcije, prekomerna konzumacija alkohola, hipertrigliceridemije, dijabetes melitus, mogu uticati na pojavu steatoze jetre u HHC, ali

rezultati studija zavise od konstrukcije uzorka, nejedinstvenih kriterijuma za uključivanje u studiju, različitih kriterijuma patohistološke dijagnoze steatoze i različitih demografskih karakteristika ispitanika. U vezi utvrđivanja količine konzumacije alkohola postoji nedovoljno objektivan i precizan način utvrđivanja količine konzumiranja alkohola, jer je zasnovan na svedočenju odnosno priznanju pacijenta (kao uostalom i u drugim studijama), uz dobro poznatu činjenicu da pacijenti najčešće podcenjuju količinu alkohola koju konzumiraju.

6.3.Uticaj steatoze jetre na uspeh antivirusnog lečenja (SVR)

Glavni cilj većine studija koje se bave steatozom jetre kod HHC je utvrđivanje značaja steatoze i HCV infekcije na progresiju hronične bolesti jetre, i uticaja steatoze na uspeh antivirusne terapije HHC. U većini ranijih istraživanja steatoza je smatrana negativnim prediktivnim faktorom uspeha antivirusne terapije, ukazivano je na negativnu korelaciju steatoze i stabilnog virusološkog odgovora kod lečenih pegIFN i ribavirinom (205,206,207,208,209,210,211,212). Istovremeno objavljene su studije u kojima steatoza nije bila uzročno povezana sa uspehom antivirusnog lečenja HHC (213,214,215,216). Poslednjih godina publikuju se radovi u kojima istraživači ukazuju da steatoza ima negativan uticaj na postizanje SVR samo ako je udružena sa HCV infekcijom genotipom 1, a da steatoza jetre kod infekcije genotipom 2 ili 3 nema značaj na ishod antivirusne terapije (178,217,218,219,220,211). Njihovi zaključci se zasnivaju na saznanju da u nastanku steatoze u HCV infekciji genotipom 1 dominiraju metabolički faktori među kojima glavnu ulogu ima pojava insulinske rezistencije, dobro poznatog

negativnog prediktora uspeha antivirusne terapije (178,190,219) . Kod obolelih sa steatozom jetre i HHC uzrokovanim genotipom 1, preporučuje se pre uvođenja antivirusne terapije, redukcija steatoze ili primena insulin senzibilizujućih agenasa uz antivirusnu terapiju. U nastanku steatoze jetre kod infekcije HCV genotipom 3 dominiraju virusni faktori, HHC uzrokovan genotipom 3 ima bolji uspeh lečenja pegIFN i ribavirinom i sa postizanjem SVR povlači se i steatoza, te pre uvođenja antivirusne terapije nije neophodno redukovati steatozu (178,184,222).

U našem istraživanju uspeh lečenja kombinovanom terapijom pegIFN- α 2a i ribavirinom analiziran je kod 92 ispitanika kod kojih je terapija primenjena u predviđenoj dužini trajanja i koji su posle terapije praćeni najmanje šest meseci. Svi praćeni bolesnici su primili terapiju u standardnim dozama preporučenim za određeni genotip HCV i telesnu težinu ispitanika. Stabilan virusološki odgovor u celom uzorku je postignut kod 75,00% ispitanika. Od 31 bolesnika sa steatozom jetre SVR je postignut kod 61,29%, a od 61 ispitanika bez steatoze jetre SVR je postignut kod 81,96%. Razlika u broju ispitanika sa SVR u grupi sa steatozom i bez steatoze je statistički značajna, tj. steatoza jetre je negativno uticala na uspeh antivirusne terapije.

Uspeh lečenja HHC kombinovanom terapijom pegIFN- α 2a i ribavirinom se postiže u oko 60% slučajeva bez obzira na genotip HCV, tj kod 50% obolelih sa HCV infekcijom genotipa 1, i kod 80% obolelih sa HCV infekcijom genotipa 2 i 3 (74, 80, 84,89,108). U našem istraživanju je postignut znatno bolji uspeh lečenja što objašnjavamo selektivnim odabirom pacijenata za terapiju, tj. favorizovanjem pacijenata sa povoljnim prediktorima dobrog terapijskog odgovora (mlađe osobe što znači, kraće trajanje HCV infekcije, bolje podnošenje terapije, manje neželjenih dejstava, manja

redukcija doze pegilovanog interferona ili ribavirina). Svi su bili „naivni“, pacijenti koji do tada nisu lečeni antivirusnom terapijom. Poznato je da „naivni“ imaju bolji odgovor na terapiju u odnosu na prethodno lečene kod kojih nije postignut virusološki odgovor („non responderi“ i „relapseri“). U studiju nisu uključivani gojazni bolesnici, niti aktivni zavisnici od psihoaktivnih supstanci čime je postignuta bolja adherenca. Inostrane studije uključuju sve pomenute kategorije bolesnika te imaju niži SVR u odnosu na domaće, gde se SVR postiže u 55,8- 93,5% bolesnika (223,224,225,226).

Jedan od najcitiranijih radova na temu antivirusne terapije i steatoze jetre kod obolelih od HHC je rad *Poyntard* i grupe saradnika iz nekoliko evropskih centara, koji među prvima ukazuju na negativan uticaj steatoze na postizanje stabilnog virusološkog odgovora. Uticaj steatoze na uspeh antivirusne terapije i uticaj antivirusne terapije na steatozu kod obolelih od HHC je analiziran kod 1428 obolelih od HHC koji nisu ranije primali antivirusnu terapiju. Lečeni su PegIFN i ribavirinom, a kod 1034 bolesnika je rađena rebiopsija jetre 6 meseci po završetku terapije. Dokazali su da se kod bolesnika sa HCV infekcijom genotipom 3 koji su imali SVR steatoza najviše smanjila ili povukla. Time se potvrđuje da genotip 3 ima direktno steatogeno dejstvo na hepatocyte, te da sa eradikacijom virusa nestaje i steatoza (204). Kod obolelih od HHC uzrokovanog genotipom non-3 ne dolazi do značajnijeg smanjenja steatoze i pored adekvatnog virusološkog odgovora. *Kumar* i sar. iz Australije, kao i grupa francuskih istraživača *Castera* i sar. takođe dokazuju da se steatoza povlači kod pacijenata sa inficiranih genotipom 3 HCV kod kojih je postignut SVR (206,222).

Da steatoza ima negativan uticaj na uspeh lečenja, u skladu sa rezultatom iz našeg istraživanja, pokazali su američki autori *Harrison* i sar., nalaze da je SVR značajno

smanjen u grupi bolesnika sa steatozom i da je steatoza zajedno sa steatohepatitisom, prediktor lošeg odgovora na antivirusnu terapiju. Kao prediktore lošeg virusološkog odgovora na antivirusnu terapiju isti autori ističu izraženu fibrozu jetre i genotip HCV (207). Grupa italijanskih istraživača *Soresi* i sar. nalaze da steatoza zajedno sa starijim godinama i povišenim BMI negativno utiče na uspeh antivirusne terapije kod obolelih od HHC (209). *Thomopoulos* sa svojim saradnicima, izučavajući faktore koji utiču na ishod antivirusne terapije obolelih od HHC, takođe dokazuje da je steatoza jetre važan nezavisan faktor za neuspeh terapije (210). Rumunski istraživači *Szanto* i saradnici zaključuju da je steatoza jetre čest histološki nalaz kod pacijenata sa HHC, da je udružena sa starošću pacijenata, da pogoršava fibrozu jetre i umanjuje uspeh terapije pegIFN- α i ribavirina (208). Kineski autori *JianWu* i sar. nalaze da su sa uspehom terapije povezani BMI, insulinska rezistencija, genotip HCV, steatoza jetre, kao i dozni režim i dužina trajanja terapije, ali da je pojava insulinske rezistencije jedini nezavisan prediktivni faktor efikasnosti antivirusne terapije (211). U našem istraživanju nismo bili u mogućnosti da uradimo određivanje insulinske rezistencije, koja je po nekim autorima čak i značajniji negativni prediktivni faktor za uspeh antivirusne terapije nego steatoza, te preporučuju da se uz antivirusnu terapiju primenjuju i insulin senzitisajzeri (metformin i dr.) koji bi umanjili ili neutralisali negativan uticaj IR na konačan uspeh antivirusne terapije (211).

U literaturi se nailazi na citate pojedinih autora koji navode da steatoza jetre nema uticaja na uspeh antivirusne terapije kod pacijenata sa HHC. Tako *Fabris* i saradnici iz Italije, izučavajući uticaj steatoze jetre na virusološki odgovor u starijih pacijenata sa hroničnim hepatitisom C lečenih pegIFN- α 2b i ribavirinom smatraju da steatoza

udružena sa infekcijom genotipom 2 i 3 HCV ne utiče značajno na ishod antivirusne terapije, te da se oni mogu uspešno lečiti uprkos visokoj prevalenci steatoze. Isti autori nalaze da niskostepena steatoza (koja zahvata do 10% hepatocita) je uglavnom udružena sa genotipom 1 HCV i negativno utiče na postizanje SVR, dok izraženija steatoza, koja je u najvećem broju slučajeva virusom indukovana i povezana sa genotipom 3, nema uticaja na uspeh antivirusne terapije (213). Ovakvo zapažanje govori u prilog tvrdnji da je genotip 3 HCV jači pozitivni prediktivni faktor postizanja SVR nego što je steatoza negativni prediktivni faktor, a da negativnom uticaju genotipa 1 HCV na uspeh antivirusne terapije doprinosi steatoza.

Da steatoza jetre nije negativan prognostički faktor stabilnog virusološkog odgovora govori i *Guidi* sa grupom italijanskih istraživača, mada potvrđuju da je steatoza jetre udružena sa težim tokom bolesti hroničnog hepatitisa C (214). I američki istraživači, *Hu* sa saradnicima, proučavajući klinički značaj steatoze jetre kod pacijenata sa HHC u multicentričnoj studiji sa 357 uključenih bolesnika, ističu da pre svega HCV genotip, gojaznost i izražena fibroza (F3-4), a ne steatoza, utiču na postizanje SVR, ali potvrđuju da je steatoza udružena sa većim stepenom fibroze (F3-4) (215). Slično nalazi i *Rodriguez-Torres* sa sar. da steatoza jetre kod pacijenata sa HHC i genotipom 2 ili 3 HCV, nema uticaja na stabilan virusološki odgovor (217).

Cross sa grupom saradnika iz Velike Britanije je u radu sa 179 pacijenata pokazao da steatoza nema uticaj na odgovor na antivirusnu terapiju kod pacijenata sa HHC, da jedino genotip HCV i prekomerna telesna težina pacijenata negativno utiču na postizanje stabilnog virusološkog odgovora (216). *Westin* i sar., u svojoj multicentričnoj studiji na 231 pacijentu sa HHC pokazuju da steatoza jetre kod pacijenata inficiranih

genotipom non-3 HCV negativno utiče na uspeh antivirusnog lečenja. Oni predlažu redukciju steatoze jetre pre početka primene antivirusne terapije kod pacijenata sa genotipom non-3 HCV. Kod pacijenata inficiranih sa genotipom 3 međutim, predlažu što ranije uvođenje antivirusne terapije (218).

O uticaju steatoze jetre na efikasnost antivirusne terapije kod pacijenata sa hroničnim hepatitisom C u našoj zemlji, nije do sada bilo dostupnih objavljenih radova. Iz našeg okruženja, najinteresantniji je rad mađarskih autora *Werling* i sar., koji na uzorku od 96 pacijenata inficiranih genotipom 1 HCV, pokazuju da kod ovih pacijenata steatoza negativno utiče na efikasnost antivirusne terapije, da je porast stepena steatoze kod ovih pacijenata u obrnutoj korelaciji sa postizanjem SVR i da postoji značajna povezanost između stepena steatoze i stepena fibroze, te na taj način steatoza može imati ulogu u napredovanju ka cirozi (220).

Kada se rezultati o uspešnosti antivirusne terapije u našem istraživanju posmatraju prema pojedinim izdvojenim grupama u odnosu na genotip i steatozu, najmanji uspeh lečenja je postignut u grupi ispitanika sa steatozom jetre i genotipom non-3 HCV, SVR kod 50,00% ispitanika. Sledeći po uspešnosti antivirusne terapije su bili pacijenti bez steatoze i sa genotipom non-3 HCV, SVR kod 78,26%, potom slede ispitanici sa genotipom 3 i steatozom koji su imali SVR u 81,82%, dok su najbolji uspeh antivirusne terapije imale osobe sa genotipom 3 bez steatoze sa postignutim SVR kod 93,33% bolesnika. U odnosu na uspeh lečenja za ceo uzorak od 75,00%, manje od toga su imali pacijenti sa steatozom jetre i genotipom non-3 (50,00%) i svi pacijenti sa genotipom non-3 bez obzira da li su imali ili nisu imali steatozu (69,70%). Iznad proseka efikasnosti antivirusne terapije za ceo uzorak su bili svi ispitanici bez steatoze (81,97%), svi

ispitanici sa genotipom 3 bez obzira na postojanje steatoze (88,64%) i ispitanici sa genotipom 3 bez steatoze jetre (93,33%). Interesatno je da su ispitanici sa genotipom 3 i steatozom jetre imali identičan uspeh antivirusne terapije kao i svi ispitanici bez steatoze jetre bez obzira na genotip (81,82% vs 81,96%), što indirektno ukazuje na činjenicu da steatoza jetre kod genotipa 3 HCV ne umanjuje uspeh antivirusne terapije. Ovo se ne može reći za ispitanike sa steatozom i genotipom non-3, koji su imali najniži uspeh antivirusne terapije (50,00%), niži od svih pacijenata sa genotipom non-3 (69,70%) i niži od pacijenata sa genotipom non-3 bez steatoze (78,26%) iz čega se nameće zaključak da je steatoza jetre kod genotipa non-3 i u našem uzorku negativni prediktivni faktora uspešnosti antivirusne terapije.

Danas prevladava mišljenje da steatoza jetre ima negativan uticaj na efikasnost antivirusne terapije, tj da je negativan prediktor postizanja SVR kod pacijenata sa hroničnom HCV infekcijom i genotipom 1. Kod ovih pacijenata sa uspešno sprovedenom terapijom steatoza se ne povlači ako se ne eliminiše ili umanja negativan uticaj faktora domaćina koji su doveli do steatoze (gojaznost, dijabetes, alkohol i dr.). Kod pacijenata sa steatozom jetre i HCV izazvanim genotipom 1 HCV, perzistiranje steatoze može pogoršati tok hroničnog hepatitisa uzrokujući fibrozu i progresiju u cirozu. Zbog toga steatozu jetre kod pacijenata sa HCV uzrokovanim genotipom 1 treba eliminisati tj. lečiti pre uključenja antivirusne terapije ili lečiti istovremeno HCV infekciju i steatozu (209,210,211,212).

Kod pacijenata sa steatozom jetre i hroničnom HCV infekcijom genotipom 3, steatoza jetre nema značajno negativan uticaj na uspeh antivirusne terapije, te antivirusnu terapiju treba primeniti bez obzira na stepen steatoze. Uspešna terapija će

uticati i na smanjenje ili lačenje steatoze, te će uz eliminaciju HCV biti eliminisana i steatoza. Ako pak kod pacijenata sa HHC uzrokovanim genotipom 3 postoji kombinovana steatoza, tj gojaznost, alkohol, dijabetes ili hiperlipidemije, onda svakako treba eliminisati ili umanjiti uticaj tih faktora pre uvođenja antivirusne terapije, ali ih držati pod kontrolom (nadzorom, lekovima, dijetom, promenom načina života) tokom antivirusne terapije, kako bi smanjili ili eliminisali steatozu jetre i njen uticaj na ishod terapije i nepovoljan tok bolesti (217,218).

7.ZAKLJUČCI

- ❖ Steatoza jetre se često javlja kod osoba sa hroničnim hepatitisom C, u našem uzorku u 34,96% slučajeva i najčešće je blaga (u $\frac{3}{4}$ slučajeva)
- ❖ Sa pojavom steatoze jetre su od faktora domaćina bili povezani povišen BMI, povišena ALT, povišeni trigliceridi u serumu, a od virusnih faktora HCV genotip 3 i viremija HCV, dok u multivarijantnoj logističkoj regresionoj analizi samo povišen BMI, genotip 3 HCV i viremija HCV statistički značajno utiču na pojavbu steatoze jetre kod osoba sa hroničnim hepatitisom C
- ❖ Na pojavu steatoze jetre od faktora domaćina pre svega utiče povišen BMI, osobe sa steatozom jetre sa prosečnim BMI 25,53 kg/m² spadale u grupu predgojaznih osoba
- ❖ Na pojavu steatoze jetre od faktora virusa utiče genotip 3 HCV, kod kojeg je više od polovine osoba (51,22%) imalo znake steatoze jetre
- ❖ Na pojavu steatoze jetre od virusnih faktora takođe utiče viremija HCV, jer su osobe sa steatozom jetre imale statistički značajno veću viremiju HCV (18.168.214 cop/ml) u odnosu na osobe bez steatoze (6.472.527 cop/ml)
- ❖ Na pojavu steatoze jetre od virusnih faktora statistički značajno utiče viremija genotipa 3 HCV, koja statistički značajno raste sa porastom stepena steatoze
- ❖ Uspeh antivirusne terapije meren postizanjem SVR je u našem uzorku iznosio 75,00%

- ❖ Na uspeh terapije su statistički značajno uticali starost ispitanika, dužina trajanja HCV infekcije, genotip HCV, prisustvo steatoze jetre i izražena fibroza jetre, u multivarijantnoj regresionoj analizi jedino su starost ispitanika i izražena fibroza statistički značajno uticale na uspeh terapije
- ❖ Steatoza jetre je negativno uticala na uspeh antivirusne terapije, pacijenti sa steatozom su imali statistički značajno manji SVR (61,29% u odnosu na osobe bez steatoze gde je SVR bio 81,95%)
- ❖ Steatoza jetre ima najjači negativni uticaj na uspeh antivirusne terapije kod osoba sa genotipom non-3 HCV (SVR 50,00%), dok kod osoba sa genotipom 3 HCV ne utiče bitno na smanjenje uspeha antivirusne terapije (SVR kod osoba sa steatozom i genotipom 3 81,82% u odnosu na prosečan SVR 75,00%)

8. DODACI

8.1. Spisak skraćenica

AIDS – acquired immune deficiency syndrome, sindrom stečene imunodeficijencije, sida

ALT – alanin aminotransferaza

AST – aspartat aminotransferaza

BMI – body mass index, indeks telesne mase

EHM – ekstrahepatične manifestacije

HAV – hepatitis A virus

HBV – hepatitis B virus

HCC – hepatocelular carcinoma, hepatocelularni karcinom

HCV – hepatitis C virus

HIV – human immunodeficiency virus, virus humane imunodeficijencije

LDL – low density lipoprotein, liprotein niske gustine

MELD – Model for End-stage Liver Disease, model za završnu fazu bolesti jetre

NAFLD – nonalcoholic fatty liver disease, nealkoholna masna bolest jetre

NASH – nonalcoholic steatohepatitis, nealkoholni steatohepatitis

IR – insulin resistance, insulinska rezistencija

PCR – polymerase chain reaction, lančana reakcija polimerazom

ROS – reactive oxygen species, reaktivne vrste kiseonika

SVR – sustained virological response, stabilan virusološki odgovor

VLDL – very low density lipoprotein, lipoprotein veoma niske gustine

8.2. Protokol ispitivanja

1. Demografski podaci

1. pol:

-muško

-žensko

2. starost: _____ (godina)

3. način infekcije:

-i. v. narkomanija

-transfuzije krvi i krvnih derivata

-seksualni put

-ostalo ili nepoznato

4. trajanje infekcije: _____ (godina)

5. konzumiranje alkohola:

a/dnevno:

-broj čaša zestokog pića (0,5 dcl): _____

-broj čaša (2 dcl) vina: _____

-broj flaša piva (0,5 l): _____

b/vremenski period konzumacije alkoholnih pića: _____ (godina)

6. upotreba medikamenata unazad 6 meseci koji mogu izazvati steatozu jetre (kortikosteroidi, estrogeni, amiodaron, nifedipin, diltiazem, tamoxifen, metotrexat): da / ne

7. kontakt sa hepatotoksičnim materijama unazad šest meseci (organski rastvarači, fosforna jedinjenja, toksini gljiva): da / ne

8. BMI body mass index: _____ (kg/m²)

II.Laboratorijski nalazi pre početka antivirusne terapije

1.BIOHEMIJSKI:

- ALT:_____ (koliko puta iznad normale)
- glikemija:_____ (mmol/l)
- trigliceridi:_____ (mmol/l)
- holesterol:_____ (mmol/l)
- feremija:_____ ()
- serumski Cu:_____ ()
- ceruloplazmin:_____ ()
- hormoni štitne žlezde: TSH:_____ T3:_____ T4:_____
- antitiroidna antitela:_____

2.IMUNOLOŠKI:

- ANA: pozitivna/negativna
- AMA: pozitivna/negativna
- AGMA: pozitivna/negativna
- autoantitela na zbirnom supstratu: pozitivna/negativna

3.VIRUSOLOŠKI:

- HCV RNA PCR kvalitativni test: pozitivan/negativan
- HCV RNA PCR kvantitavni test:_____ (k/ml)
- genotip virusa hepatitisa C:_____ (1-6)
- HBsAg: pozitivan/negativan
- Anti HIV At: pozitivna/negativna

III.Laboratorijski nalazi na kraju perioda praćenja**1.BIOHEMIJSKI:**

-ALT:_____ (koliko puta iznad normale)

-glikemija:_____ (mmol/l)

-trigliceridi:_____ (mmol/l)

-holesterol:_____ (mmol/l)

2.VIRUSOLOŠKI:

- kvalitativni HCV RNA PCR: pozitivan/negativan

IV.Patohistološki nalaz: pre početka terapije

-stepen nekroinflamatorne

aktivnosti: _____

-prisustvo fibroze: _____

-prisustvo steatoze: _____

9.LITERATURA

- 1.Mandell, Bennett & Dolin: Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed., Churchill Livingstone, Boston, 2005
- 2.Houghton M. The long and winding road leading to the identification of the hepatitis C virus. *Journal of Hepatology* 2009;51:939-48
- 3.Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH, Alter HJ and Holland PV. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N Engl J Med* 1975;292:767-70
- 4.Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW and Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989;244:359-362
- 5.Alter H. Discovery of non-A, non-B hepatitis and identification of its etiology. *Am J Med* 1999 Dec 27;107(6B):16S-20S
- 6.Houghton M. Discovery of the hepatitis C virus. *Liver Int* 2009;29 Suppl 1:82-8
- 7.Poynard T, Yuen MF, Ratziu V et Lai CL. Viral hepatitis C. *Lancet* 2003;362:2095-100
8. Anđelić M, Pantelić M. Zbirka propisa o službi za transfuziju krvi. Zavod za transfuziju krvi Srbije, Beograd, 1995.
9. Shukla DD, Hoyne PA, Ward CW. Evaluation of complete genome sequences and sequences of individual gene products for the classification of hepatitis C viruses. *Arch Virol* 1995;140(10):1747-61
10. Tang H. and Grise H. Cellular and molecular biology of HCV infection and hepatitis. *Clinical Science* 2009;117:49-65
- 11.Nešković G.,Jovanović-Čupić S.,Živković J.,Spasojević-Tišma V. Molekularna biologija hepatitis C virusa. *Acta Infectologica Yugoslavica* 2004;8:5-11
- 12.Gonzales-Candelas F and Lopez-Labrador FX. Clinical Relevance of Genetic Heterogeneity in HCV. *Future Virology* 2010;5(1):33-49
- 13.Simmonds P et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 2005;42:962-73

14. Stamenković G, Žerjav S, Veličković ZM, Krtolica K, Samardžija VL, Jemuović Lj, Nožić D, Dimitrijević B. Distribution of HCV genotypes among risk groups in Serbia. *Eur J Epidemiol* 2000;16:949-54
15. Švirtlih N, Delić D, Simonović J, Jevtović Đ, Dokić Lj, Gvozdenović E, Boričić I, Terzić D, Pavić S, Nešković G, Žerjav S and Urban V. Hepatitis C virus genotypes in Serbia and Montenegro: The prevalence and clinical significance. *World J Gastroenterol* 2007;13(3):355-60
16. Castera L, Chouteau P, Hezode C, Zafrani ES, Dhumeaux D and Pawlotsky JM. Hepatitis C Virus-Induced Hepatocellular Steatosis. *The American Journal of Gastroenterology* 2005;100:711-5
17. Zezum S, Berg T, Moeller B, Hinrichen H et al. Expert Opinion on the Treatment of Patients With Chronic Hepatitis C. *J Viral Hepatol* 2009;16(2):75-90
18. Joyce MA, Lorne J Tyrrell D. The cell biology of hepatitis C virus. *Microb Infect* 2010, article in press
19. Mauss S, Berg T, Rockstroh J, Sarrazin C and Wedemeyer H. *Hepatology, a clinical textbook*. Flying Publisher, Düsseldorf, 2010
20. Freeman AJ, Marinos G, French R and Lloyd AR. Immunopathogenesis of hepatitis C virus infection. *Immunology and Cell Biology* 2001;79:515-36
21. Nelson DR. The immunopathogenesis of hepatitis C virus infection. *Clin Liver Dis*. 2001;5(4):931-53
22. Chang KM. Immunopathogenesis of hepatitis C virus infection. *Clin Liver Dis*. 2003;7(1):89-105
23. Joyce MA, Walters KA, Lamb SE, Yeh MM, Zhu LF, Kneteman N, Doyle JS, Katze MG and Tyrrell DL. HCV Induces Oxidative and ER Stress, and Sensitizes Infected Cells to Apoptosis in SCID/Alb-uPa Mice. *PLoS Pathog* 2009;5(2):e1000291
24. Fischer R, Baumert T and Blum HE. Hepatitis C virus infection and apoptosis. *World J Gastroenterol* 2007;13(36):4865-72
25. Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Tsatsumi T, Tsukamoto K et al. Hepatitis C virus infection and diabetes: direct involvement of the virus in the development of insulin resistance. *Gastroenterology* 2004;126(3):840-8
26. Moriya K, Yotsuyanagi H, Shintani Y, Fujie H, Ishibashi K et al. Hepatitis C virus core protein induces hepatic steatosis in transgenic mice. *Journal of General Virology* 1997;78:1527-31

27. Rubbia-Brandt L, Quadri R, Abid K, Giostra E, Male PJ, Mentha G, et al. Hepatocyte steatosis is a cytopathic effect of hepatitis C virus genotype 3. *J Hepatol* 2000;33(1):106-115
28. Kasprzak A and Adamek A. Role of hepatitis C virus proteins (C, NS3, NS5A) in hepatic oncogenesis. *Hepatol Res* 2008;38(1):1-26
29. Mindikoglu AL and Miller RR. Hepatitis C in the Eldery: Epidemiology, Natural History and Treatment. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7(2):128-34
30. Lavanchy D. The global burden of hepatitis C. *Liver International* 2009;29(s1):74-81
31. Mühlberger N, Schwarzer R, Lettmeier B, Sroczynski G, Zeuzem S and Siebert U. HCV-related burden of disease in Europe: a systematic assessment of incidence, prevalence, morbidity and mortality. *BMC Public Health* 2009;9:34
32. Shepard CW, Finelli L and Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect Dis* 2005;5:558-67
33. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol* 2007;13(17):2436-2441
34. Prati D. Transmission of hepatitis C virus by blood transfusions and other medical procedures : A global review. *Journal of Hepatology* 2006;45:607-616
35. Versace A, Bezzio S and Tovo PA. Mother-to-child hepatitis C virus transmission. *Hot Topics in Viral Hepatitis* 2008;11:7-11
36. Esteban JI, sauleda S and Quer J. The changing epidemiology of hepatitis C virus infection in Europe. *Journal of Hepatology* 2008;48:148-62
37. Jacobson IM, Davis GL, El-Serag H, Negro F and Trepo C. Prevalence and Challenges of Liver Diseases in Patients With Chronic Hepatitis C Virus Infection. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2010;8:924-933
38. Yamada T, Owyang C, Kaplowitz N, Kallo AN and Alpers DH. *Principles of Clinical Gastroenterology* , 5th edition, Wiley John & Sons, 2008, USA
39. Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL and Jameson JL. *Harrisons Principles of Internal Medicine*, 16th edition, Mc Graw-Hill Professional, 2004, Boston ,USA
40. Chen SL and Morgan TR. The Natural History of Hepatitis C Virus (HCV) Infection. *Int J Med Sci* 2006;3(2):47-52

41. Massard J, Ratziu V, Thabut D, Moussalli J, Lebray P, Benhamou Y and Poynard T. Natural history and predictors of disease severity in chronic hepatitis C. *Journal of Hepatology* 2006;44:S19-S24
42. Mallat A, Hezode C and Lotersztajn S. Environmental factors as disease accelerators during chronic hepatitis C. *Journal of Hepatology* 2008;48:657-65
43. Marcellin P, Asselah T and Boyer N. Fibrosis and Disease Progression in Hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S47-S56
44. Shariff MIF, Cox IJ, Gomaa AI, Khan SA, Gedroyc W and Taylor-Robinson S. Hepatocellular Carcinoma: Current Trends in Worldwide Epidemiology, Risk Factors, Diagnosis and Therapeutics. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2009;3(4):353-367
45. Bartosch B, Thimme R, blum HE and Zoulim F. Hepatitis C virus-induced hepatocarcinogenesis. *Journal of Hepatology* 2009;51:810-20
46. Farinati F, Cardin R, Bortolami M, Burra P, Russo FP, Rugge M, Guido M, Sergio A and Naccarato R. Hepatitis C virus: from oxygen free radicals to hepatocellular carcinoma. *Journal of Viral Hepatitis* 2007;14:821-29
47. Pekow JR, Bhan AK, Zheng H and Chung RT. Hepatic Steatosis Is Associated With Increased Frequency of Hepatocellular Carcinoma in Patients With Hepatitis C-Related Cirrhosis. *Cancer* 2007;109(12):2490-6
48. Puchner KP and Berg T. Extrahepatic manifestations of chronica hepatitis C virus infection. *Z Gastroenterol* 2009;47(5):446-56
49. Sene D, Limal N and Cacoub P. Hepatitis C virus-associated extrahepatic manifestations: a review. *Metab Brain Dis* 2004;19(3-4):357-81
50. Mayo MJ. Extrahepatic manifestations of hepatitis C infection. *Am J Med Sci* 2003;325(3):135-148
51. Zignego AL and Craxi A. Extrahepatic manifestation of hepatitis C virus infection. *Clin Liver Dis* 2008;12(3):611
52. Zignego AL, Giannini C and Ferri C. Hepatitis C virus-related lymphoproliferative disorders: An overview. *World J Gastroenterol* 2007;13(17):2467-78
53. Galossi A, Guarisco R, Bellis L and Puoti C. Extrahepatic Manifestations of Chronic HCV Infection. *J Gastrointestin Liver Dis* 2007;16(1):65-73
54. Ramos-Casals M and Font J. Extrahepatic manifestations in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Curr Opin Rheumatol* 2005;17:447-455

55. Zignego AL, Ferri C, Pileri SA, Caini P and Bianchi FB. Extrahepatic manifestations of Hepatitis C Virus infection: a general overview and guidelines for a clinical approach. *Dig Liver Dis* 2007;39(1):2-17
56. Zein NN and Aman A. Hepatitis C infection: A systemic disease with extrahepatic manifestations. *Cleveland Clinic Journal of Medicine* 2005;72(11):1005-19
57. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL and Seeff LB. Diagnosis, Management and Treatment of Hepatitis C: An Update. *Hepatology* 2009;49(4):1335-74
58. Saleh HA and Abu-Rashed AH. Liver Biopsy Remains the Gold Standard for Evaluation of Chronic Hepatitis and Fibrosis. *J Gastrointest Liver Dis* 2007;16(4):425-426
59. Afdhal NH. Biopsy or Biomarkers: Is There a Gold Standard for Diagnosis of Liver Fibrosis? *Clinical Chemistry* 2004;50(8):1299-1300
60. Sporea I, Popescu A and Sirlu R. Why, who and how should perform liver biopsy in chronic liver diseases. *World J Gastroenterol* 2008;14(21):3396-3402
61. Rockey DC, Cladwell SH, Goodman ZD, Nelson RC and Smith AD. Liver Biopsy. *Hepatology* 2009;49(3):1017-44
62. Guido M and Rugge M. Liver biopsy sampling in chronic viral hepatitis. *Semin Liver Dis* 2004;24:89-97
63. Goodman ZD. Grading and staging systems for inflammation and fibrosis in chronic liver diseases. *Journal of Hepatology* 2007;47:598-607
64. Desmet VJ. Milestones in Liver Disease. Scoring chronic hepatitis. *Journal of Hepatology* 2003;38:382-6
65. Poynard T, Benhamou Y, Thabut D and Ratzu V. Liver biopsy: The best standard...when everything else fails. *Journal of Hepatology* 2009;(50):1267-72
66. Tiniakos DG. Nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis: histological diagnostic criteria and scoring systems. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* 2010;22(6):643-650
67. Swain MG, Lai MY, Shiffman ML, Cooksley WGE, Zeuzem S, et al. A sustained virological response is durable in patients with chronic hepatitis C treated with peginterferon alpha-2a and ribavirin. *Gastroenterology* 2010;139(5):1593-601

68. Swain MG, Lai MY, Shiffman ML, Cooksley WGE, Zeuzem S, Dieterich DT, et al. A Sustained Virologic Response Is Durable in Patients With Chronic Hepatitis C Treated With Peginterferon Alfa-2a and Ribavirin. *Gastroenterology* 2010. Article in press.
69. Cornberg M, Manns MP and Wedemeyer H. Hepatitis C Standard of Care in Mauss S, Berg T, Rockstroh J, Sarrazin C and Wedemeyer H. *Short Guide to Hepatitis C*. Flying Publisher & Kamps 2011 Germany
70. Rumi MG, Aghemo A, Prati GM, D'Ambrosio R, Donato MF, et al. Randomized Study of Peginterferon- α 2a Plus Ribavirin vs Peginterferon- α 2b Plus Ribavirin in Chronic Hepatitis C. *Gastroenterology* 2010;138(1):108-115
71. Ascione A, De Luca M, Tartaglione MT, Lampasi F, Di Costanzo GG, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin is more effective than peginterferon alfa-2b plus ribavirin for treating chronic hepatitis C virus infection. *Gastroenterology* 2010;138(1):116-22
72. Awad T, Thorlund K, Hauser G, Stimac D, Mabrouk M and Gluud C. Peginterferon alpha-2a Is Associated with Higher Sustained Virological Response than Peginterferon alpha-2b in Chronic Hepatitis C: Systematic Review of Randomized Trials. *Hepatology* 2010;51(3):1-9
73. Awad T, Thorlund K, Hauser G, Stimac D, Mabrouk M et al. Cochrane Hepato-Biliary Group. Peginterferon alpha-2a may achieve higher sustained virological response than peginterferon alpha-2b in chronic hepatitis C: a Cochrane systematic review of randomized clinical trials. *Hepatology* 2009;50(Suppl):707-708A
74. Witthoef T, Hueppe D, John C, Goelz J, Heyne R, Moeller B et al. Efficacy and Tolerability of Peginterferon Alfa-2a or Alfa-2b Plus Ribavirin in the Daily Routine Treatment of Patients with Chronic Hepatitis C in Germany: The PRACTICE Study. *J Viral Hepat* 2010;17(7):459-468
75. Escudero A, Rodriguez F, Serra MA, Del Olmo JA, Montes F and Rodrigo JM. Pegylated α -interferon-2a plus ribavirin compared with pegylated α -interferon-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C virus: Prospective, non-randomized study. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2008;23:861-6
76. Foster GR. Pegylated interferons for the treatment of chronic hepatitis C: pharmacological and clinical differences between peginterferon-alpha-2a and peginterferon-alpha-2b. *Drugs* 2010;70(2):147-65
77. Zeuzem S. Do Differences in Pegylation of Interferon Alfa Matter? *Gastroenterology* 2010;138(1):34-6

78. McHutchison JG, Lawitz EJ, Shiffman ML, et al. IDEAL Study Team. Peginterferon alfa-2b or alfa-2a with ribavirin for treatment of hepatitis C infection. *N Engl J Med* 2009;361:580-93. Erratum in: *N Engl J Med* 2009;361:1027
79. Corey KE, Mendez-Navaro J, Gorospe EC, Zheng H and Chung RT. Early Treatment Improves Outcomes in Acute Hepatitis C Virus Infection: A Meta-analysis. *J Viral Hepat* 2010;17(3):201-7
80. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, Balan V, Diago M, Marcellin P, et al. Peginterferon- α 2a and Ribavirin Combination Therapy in Chronic Hepatitis C. *Ann Intern Med* 2004;140:346-55
81. Mihm U, Herrmann E, Sarrazin C and Zeuzem S. Review article: predicting response in hepatitis C virus therapy. *Alimen Pharm Therap* 2006;23:1043-52
82. Gao B, Hong F and Radaeva S. Host Factors and Failure of Interferon- α Treatment in Hepatitis C virus. *Hepatology* 2004;39(4):880-90
83. Kau A, Vermehren J and Sarrazin C. Treatment predictors of a sustained virologic response in hepatitis B and C. *Journal of Hepatology* 2008;49:634-651
84. Asselah T, Estrabaud E, Bieche I, Lapalus M, De Muynck S et al. Hepatitis C: viral and host factors associated with non-response to pegylated interferon plus ribavirin. *Liver International* 2010;30(9):1259-1269
85. Grasso A, Malfatti F, De Leo P, Martines H, Fabris P et al. Insulin resistance predicts rapid virological response in non-diabetic, non-cirrhotic genotype 1 HCV patients treated with peginterferon alpha-2a plus ribavirin. *Journal of Hepatology* 2009;51:984-990
86. Poordad F, Reddy KR and Martin P. Rapid virologic response: a new milestone in the management of chronic hepatitis C. *Clin Infect Dis* 2008;46(1):78-84
87. Poordad F. Review Article: The Role of Rapid Virological Response in Determining Treatment Duration for Chronic Hepatitis C. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 2010;31(12):1251-7
88. Marcellin P, Heathcote EJ and Craxi A. Which patients with genotype 1 chronic hepatitis C can benefit from prolonged treatment with the „accordion“ regimen? *Journal of Hepatology* 2007;47:580-7
89. Francois C, Castelain S, Duverlie G, Capron D and Nguyen-Khac E. Optimizing the Treatment of Chronic Viral Hepatitis C. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2009;3(6):607-13

90. Zeuzem S, Rizzetto M, Ferenci P and Shiffman ML. Management of hepatitis C virus genotype 2 or 3 infection: treatment optimization on the basis of virological response. *Antiviral Therapy* 2009;14:143-154
91. McHutchison JG, Manns M, Patel K et al. Adherence to combination therapy enhances sustained response in genotype 1 infected patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterol* 2002;123:1061-69
92. Reddy KR, Nelson DR and Zeuzem S. Ribavirin: Current role in the optimal clinical management of chronic hepatitis c. *Journal of Hepatology* 2009;50:402-411
93. Fried MW. Side Effects of Therapy of Hepatitis C and Their Management. *Hepatology* 2002;36:S237-S244
94. Shiffman ML. Side effects of medical therapy for chronic hepatitis C. *Annals of Hepatology* 2004;3(1):5-10
95. Blacklaws H, Gardner A and Usher K. Irritability: an underappreciated side effect of interferon treatment for chronic hepatitis C? *J Clin Nurs* 2011;20(9-10):1215-24
96. Schaefer M, Mauss S. Hepatitis C treatment in patients with drug addiction: clinical management of interferon-alpha-associated psychiatric side effects. *Curr Drug Abuse Rev* 2008;1(2):177-87
97. Schaefer M, Hinzpeter A, Mohmand A, Janssen G, Pich M, et al. Hepatitis C treatment in „difficult-to-treat“ psychiatric patients with pegylated interferon-alpha and ribavirin: response and psychiatric side effects. *Hepatology* 2007;46(4):991-8
98. Kowdley KV. Hematologic side effects of interferon and ribavirin therapy. *J Clin Gastroenterol* 2005;39(1 Suppl):S3-8
99. Antonini MG, Babudieri S, Maida I, Baiguera C, Zanini B, et al. Incidence of neutropenia and infections during combination treatment of chronic hepatitis C with pegylated interferon alfa-2a or alfa-2b plus ribavirin. *Infection* 2008;36(3):250-5
100. Ong JP and Younossi ZM. Managing the hematologic side effects of antiviral therapy for chronic hepatitis C: Anemia, neutropenia and thrombocytopenia. *Cleveland Clinic Journal of Medicine* 2004;71(Suppl 3):S17-S21
101. Seyam MS, Freshwater DA, O'Donnell K and Mutimer DJ. Weight loss during pegylated interferon and ribavirin treatment of chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2005;12(5):531-5
102. Antonelli A, Ferri C and Fallahi P. Hepatitis C: thyroid dysfunction in patients with hepatitis C on IFN-alpha therapy. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2009;6(11):633-5

103. Friedrich-Rust M, Theobald J, Zeuzem S and Bojunga J. Thyroid function and changes in ultrasound morphology during antiviral therapy with pegylated interferon and ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2009;16(3):168-77
104. Sulkowski MS, Cooper C, Hunyady B, Jia J, Ogurtsov P, et al. Management of adverse effects of Peg-IFN and ribavirin therapy for hepatitis C. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2011;8:212-223
105. Sung H, Chang M and Saab S. Management of Hepatitis C Antiviral Therapy Adverse Effects. *Curr Hepatitis Rep* 2011;10:33-40
106. Sarrazin C, Berg T, Ross RS, Schirmacher P, Wedemeyer H, et al. Prophylaxis, diagnosis and therapy of hepatitis C virus (HCV) infection: the German guidelines on the management of HCV infection. *Z Gastroenterol* 2010;48:289-351
107. Heathcote J and Main J. Treatment of hepatitis C. *Journal of Viral Hepatitis* 2005;12:223-235
108. Ferguson MC. Current Therapies for Chronic Hepatitis C. *Pharmacotherapy* 2011;31(1):91-11
109. Liu CH and Kao JH. Treatment of hepatitis C virus infection in patients with end-stage renal disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2011;26:228-239
110. Sulkowski MS. Viral hepatitis and HIV coinfection. *Journal of Hepatology* 2008;48:353-367
111. Puoti M. Treatment of chronic hepatitis C in HIV/HCV coinfecting patients. *Hot Topics in Viral Hepatitis* 2008;10:17-26
112. Gluud LL, Marchesini E and Iorio A. Peginterferon plus ribavirin for chronic hepatitis C in patients with human immunodeficiency virus. *Am J Gastroenterol* 2009;104(9):2335-41
113. Terrault NA. Hepatitis C Therapy Before and After Liver Transplantation. *Liver Transplantation* 2008;14(10):S58-S66
114. Paveling-Oberhag J, Zeuzem S and Hofmann WP. Antiviral therapy of chronic hepatitis C in patients with advanced liver disease and after liver transplantation. *Med Microbiol Immunol* 2010;199:1-10
115. Guillouche P and Feray C. Systematic review: anti-viral therapy of recurrent hepatitis C after liver transplantation. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;33(2):163-74

116. Yeung LTF and Roberts EA. Current issues in the management of paediatric viral hepatitis. *Liver International* 2009;30(1):5-18
117. Hu J, Doucette K, Hartling L, Tjosvold L and Robinson J. Treatment of Hepatitis C in Children: A Systematic Review. *PloS ONE* 2010;5(7):e11542
118. Arshad M, El-Kamary SS and Jhaveri R. Hepatitis C virus infection during pregnancy and the newborn period-are they opportunities for treatment? *J Viral Hepat* 2011;18(4):229-36
119. Valladares G, Chacaltana A and Sjogren MH. The management of HCV-infected pregnant women. *Ann Hepatol* 2010;9(Suppl):92-7
120. Singal AG, Waljee AK, Shiffman M, Bacon BR and Schoenfeld PS. Meta-analysis: Re-treatment of Genotype 1 Hepatitis C Nonresponders and Relapsers after Failing Interferon and Ribavirin Combination Therapy. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 2010;32(8):969-83
121. Dietrich DT, Rizzetto M and Manns MP. Management of Chronic Hepatitis C Patients Who have Relapsed or Not Responded to Pegylated Interferon Alfa Plus Ribavirin. *J Viral Hepat* 2009;16(12):833-43
122. Jensen DM, Marcellin P, Freilich B, Andreone P, Di Bisceglie A, et al. Re-treatment of Patients With Chronic Hepatitis C Who Do Not Respond to Peginterferon- α 2b. *Ann Intern Med* 2009;150:528-540
123. Lange CM, Sarrazin C and Zeuzem S. Review Article: Specifically Targeted Antiviral Therapy for Hepatitis C – A New Era in Therapy. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 2010;32(1):14-28
124. TenCate V, Sainz Jr B, Cotler SJ and Uprichard SL. Potential treatment options and future research to increase hepatitis C virus treatment response rate. *Hepat Med* 2010;2:125-45
125. Pockros PJ. New Direct-acting Antivirals in the Development for Hepatitis C virus Infection. *Ther Adv Gastroenterol* 2010;3(3):191-202
126. Moreno-Otero R and Trapero-Marugan M. Hepatoprotective effects of antioxidants in chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2010;16(15):1937-8
127. Gabbay E, Zigmund E, Pappo O, Hemed N, Rowe M, et al. Antioxidant therapy for chronic hepatitis C after failure of interferon: Results of phase II randomized, double-blind placebo controlled clinical trial. *World J Gastroenterol* 2007;13(40):5317-23

128. Grüngreiff K and Reinhold D. Zinc: A complementary factor in the treatment of chronic hepatitis C? (Review). *Molecular Medicine Reports* 2010;3:371-375
129. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, et al. Design and Validation of Histological Scoring System for Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology* 2005;41:1313-21
130. Burt AD, Mutton A and Day CP. Diagnosis and interpretation of steatosis and steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 1998;15:246-58
131. Farrell GC and Larter CZ. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: From Steatosis to Cirrhosis. *Hepatology* 2006;43:S99-S112
132. Starley BQ, Calcagno CJ and Harrison SA. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Hepatocellular Carcinoma: A Weighty Connection. *Hepatology* 2010;51:1820-32
133. Clark JM. The Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Adults. *J Clin Gastroenterol* 2006;40:S5-S10
134. Lazo M and Clark JM. The Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Global Perspective. *Semin Liver Dis* 2008;28(4):339-350
135. Angulo P. GI Epidemiology: Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 2007;25(8):883-9
136. Paschos P and Paletas K. Nonalcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome. *Hippokratia* 2009;13(1):9-19
137. Tarantino G, Saldalamacchia G, Conca P and Arena A. Non-alcoholic fatty liver disease: Further expression of the metabolic syndrome. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2007;22:293-303
138. Kotronen A and Yki-Järvinen H. Fatty Liver A Novel Component of the Metabolic Syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:27-38
139. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR , et al. Diagnosis and management if the metabolic syndrome: an American Heart Association/ National Heart, Lung and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005;112:2735-52
140. Cheung O and Sanyal AJ. Recent Advances in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2010;26(3):202-8
141. Liu Q, Bengmark S and Qu S. The role of hepatic fat accumulation in pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Lipids in Health and Disease* 2010;9:42

142. Lewis JR and Mohanty SR. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Review and Update. *Dig Dis Sci* 2010;55:560-78
143. Choudhury J and Sanyal AJ. Clinical Aspects of Fatty Liver Disease. *Semin Liver Dis* 2004;24(4):349-62
144. Oh MK, Winn J and Poordad F. Review Article: Diagnosis and Treatment of Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 2008;28(5):503-22
145. Goodman ZD and Ishak KG. Histopathology of hepatitis C virus infection. *Semin Liver Dis* 1995;15:70-81
146. EASL Special conference: NAFLD/NASH and Related Metabolic Disease. Bologna 2009. (www.easl.eu/bologna2009)
147. Lonardo A, Ioria P and Carulli N. Dysmetabolic changes associated with HCV: a distinct syndrome? *Intern Emerg Med* 2008;3:99-108
148. Poynard T, Ratziu V, McHutchinson J, Manns M, Goodman Z, Zeuzem S, Younossi Z. Effect of treatment with peginterferon or interferon alfa-2b and ribavirin on steatosis in patients infected with hepatitis C. *Hepatology* 2003;38:75-85
149. Koike K and Moriya K. Metabolic aspects of hepatitis C viral infection: steatohepatitis resembling but distinct from NASH. *J Gastroenterol* 2005;40:329-336
150. Masarone M, La Mura V, Bruno S, Gaeta GB, Vecchione R et al. Steatohepatitis is associated with diabetes and fibrosis in genotype 1b HCV-related chronic liver disease. *J Viral Hepat* 2007;14:714-720
151. Persico M and Iolascon A. Steatosis as a co-factor in chronic liver disease. *World J Gastroenterol* 2010;16(10):1171-6
152. Arrese M, Riquelme A and Soza A. Insulin resistance, hepatic steatosis and hepatitis C: A complex relationship with relevant clinical implication. *Annals of Hepatology* 2010;9(Suppl.1):S112-S118
153. Negro F. Hepatitis C Virus-Induced Steatosis: An Overview. *Dig Dis* 2010;28:294-99
154. Mihm S. Hepatitis C Virus, Diabetes and Steatosis: Clinical Evidence in Favor of a Linkage and Role of Genotypes. *Dig Dis* 2010;28:280-284
155. Ramesh S and Sanyal AJ. Hepatitis C and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Semin Liver Dis* 2004;24(4):399-413

156. Clouston AD, Jonsson JR and Powell EE. Chronic Hepatitis C and Steatosis. *Current Hepatitis reports* 2004;3:123-8
157. Rubbia-Brandt L, Quadri R, Abid K, Giostra E, Male PJ, et al. Hepatocyte steatosis is a cytopathic effect of hepatitis C virus genotype 3. *Journal of Hepatology* 2000;33:106-115
158. Rubbia-Brandt L, Fabris P, Paganin S et al. Steatosis affects chronic hepatitis C progression in a genotype-specific way. *Gut* 2003; in press
159. Lonardo A, Loria P, Adinolfi LE, Carulli N and Ruggiero G. Hepatitis C and Steatosis: a reappraisal. *Journal of Viral Hepatitis* 2006;13:73-80
160. Adinolfi LE. Hepatitis C and fatty liver. *Hot Topics in Viral Hepatitis* 2006;2:25-32
161. Björnsson E and Angulo P. Hepatitis C and Steatosis. *Arcives of medical Research* 2007;38:621-7
162. Machado MV and Cortez-Pinto H. Insulin resistance and steatosis in chronic hepatitis C. *Ann Hepatol* 2009;8:S67-75
163. Kumar D, Farrell GC, Fung C and George J. Hepatitis C virus genotype 3 is cytopathic to hepatocytes: Reversal of hepatic steatosis after sustained therapeutic response. *Hepatology* 2002;36:1266-72
164. Reddy KR, Govindarajan S, Marcellin P et al. Hepatic steatosis in chronic hepatitis C: baseline host and viral characteristics and influence on response to therapy with peginterferon alpha-2a plus ribavirin. *J Viral Hepatol* 2008;15:129-36
165. Castera L, Hezode C, Roudot-Thovaral F et al. Effect of antiviral treatment on evolution of liver steatosis in patients with chronic hepatitis C: indirect evidence of a role of hepatitis C virus genotype 3 in steatosis. *Gut* 2004;53:420-4
166. Patel JH, Cobbold JFL, Thomas HC and Taylor-Robinson SD. Hepatitis C and hepatic steatosis. *Q J Med* 2010;103:293-303
167. Castera L, Chouteau P, Hezode C, Zafrani ES, Dhumeaux D and Pawlotsky JM. Hepatitis C Virus-Induced Hepatocellular Steatosis. *Am J Gastroenterol* 2005;100:711-5
168. Harrison SA. Steatosis and Chronic Hepatitis C Infection: Mechanisms and Significance. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2005;3:S92-S96
169. Yoon EJ and Hu KQ. Hepatitis C Virus (HCV) Infection and Hepatic Steatosis. *Int J Med Sci* 2006;3:53-6

170. Negro F. Abnormalities of lipid metabolism in hepatitis C virus infection. *Gut* 2010;59:1279-1287
171. Negro F. Mechanisms and significance of liver steatosis in hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol* 2006;12(42):6756-65
172. Negro F and Sanyal AJ. Hepatitis C virus, steatosis and lipid abnormalities : clinical and pathogenic data. *Liver International* 2009;29(s2):26-37
173. Clement S, Pascarella S and Negro F. Hepatitis C virus Infection : Molecular Pathway to Steatosis, Insulin Resistance and Oxidative Stress. *Viruses* 2009;1:126-143
174. Mirandola S, Bowman D, Hussain MM and Alberti A. Hepatic steatosis in hepatitis C is a storage disease due to HCV interaction with microsomal triglyceride transfer protein (MTP). *Nutrition & Metabolism* 2010;7:13
175. Younossi ZM and McCullough AJ. Metabolic syndrome, non-alcoholic fatty liver disease and hepatitis C virus: impact on disease progression and treatment response. *Liver International* 2009;29(s2):3-12
176. Fartoux L, Chazouilleres O, Wendum D, Poupon R and Serfaty L. Impact of Steatosis on Progression of Fibrosis in Patient With Mild Hepatitis C. *Hepatology* 2005;41:82-7
177. Asselah T, Rubbia-Brandt L, Marcellin P and Negro F. Steatosis in chronic hepatitis C: Why does it really matter? *Gut* 2006;55:123-130
178. Negro F and Clement S. Impact of Obesity, Steatosis and Insulin Resistance on Progression and Response to Therapy of Hepatitis C-Review. *J Viral Hepat* 2009;16(10):681-688
179. Blonsky JJ and Harrison SA. Review Article: Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Hepatitis C Virus- Partners in Crime. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 2008;27(10):855-65
180. Kurosaki M, Hosokawa T, Matsunaga K, Hirayama I, Tanaka T et al. Hepatic steatosis...
181. Koike K. Steatosis, liver injury, and hepatocarcinogenesis in hepatitis C viral infection. *J Gastroenterol* 2009;44(Suppl XIX):82-88
182. Tanaka A, Uegaki S, Kurihara H, Aida K, Kikami M, et al. Hepatic steatosis as a possible risk factor for the development of hepatocellular carcinoma after eradication of hepatitis C virus antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2007;13(39):5180-5187

183. Ohata K, Hamasaki K, Toriyama K, Matsumoto K, Saeki A, et al. Hepatic Steatosis Is a Risk Factor for Hepatocellular Carcinoma in Patients with Chronic Hepatitis C Virus Infection. *Cancer* 2003;97:3036-43
184. Cross TJS, Rashid MM, Berry PA and Harrison PM. The importance of steatosis in chronic hepatitis C infection and its management : A review. *Hepatology Research* 2010; 40:237-247
185. Kawaguchi T and Sata Michio. Importance of hepatitis C virus-associated insulin resistance: Therapeutic strategies for insulin sensitization. *World J Gastroenterol* 2010;16(16):1943-52
186. Hwang SJ and Lee SD. Hepatic steatosis and hepatitis C: Still unhappy bedfellows? *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2011;26(Suppl 1):96-101
187. El-Zayadi AR. Hepatic steatosis. A benign disease or a silent killer. *World J Gastroenterol* 2008; 14(26):4120-4126
188. Asselah T, Boyer N, Guimont MC, Cazals-Hatem D, Tubach F, et al. Liver fibrosis is not associated with steatosis but with necroinflammation in French patients with chronic hepatitis C. *Gut* 2003;52:1638-1643
189. Matos CAL, Perez RM, Pacheco MS, Figueiredo-Mendes CG, Lopes-Neto E, et al. Steatosis in Chronic Hepatitis C: Relationship to the Virus and Host Risk Factors. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006;21(8):1236-1239
190. Conjeevaram HS, Kleiner DE, Everhart JE, Hoofnagle JH, Zacks S, et al. Race, Insulin Resistance and Hepatic Steatosis in Chronic Hepatitis C. *Hepatology* 2007;45:80-87
191. Reddy KR, Govindarajan S, Marcellin P, Bernstein D, Dienstag JL, et al. Hepatic steatosis in chronic hepatitis C: baseline host and viral characteristics and influence on response to therapy with peginterferon α -2a plus ribavirin. *Journal of Viral Hepatitis* 2008;15:129-126
192. Nieminen U, Arkkila PE, Kärkkäinen P and Färkkilä MA. Effect of steatosis and inflammation on liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Liver International* 2009;12:153-158
193. Perumalswami P, Kleiner DE, Lutchman G, Heller T, Borg B et al. Steatosis and Progression of Fibrosis in Untreated Patients With Chronic Hepatitis C Infection. *Hepatology* 2006;43:780-787
194. Rubbia-Brandt L, Leandro G, Spahr L, Giostra E, Quadri R, Male PJ and Negro F. Liver steatosis in chronic hepatitis C: a morphological sign suggesting infection with HCV genotype 3. *Histopathology* 2001;39:119-124

195. Rubbia-Brandt L, Fabris P, Paganin S, Leandro G, Male PJ, Giostra E, Carlotto A, Bozzola L, Smedile A and Negro F. Steatosis affects chronic hepatitis C progression in a genotype specific way. *Gut* 2004;53:406-412
196. Leandro G, Mangia A, Hui J, Fabris P, Rubbia-Brandt L, Colloredo G, Adinolfi LE, Asselah T et al. Relationship Between Steatosis, Inflammation and Fibrosis in Chronic Hepatitis C: A Meta-Analysis of Individual Patient Data. *Gastroenterology* 2006;130:1636-1642
197. Fierbinteanu-Braticevici C, Mohora M, Tribus L, Petrisor A, Cretoiu SM et al. Hepatocyte steatosis in patients infected with genotype 1 hepatitis C virus. *Romanian Journal of Morphology and Embryology* 2010;51(2):235-242
198. Monto A, Alonzo J, Watson JJ, Grunfeld C and Wright TL. Steatosis in Chronic Hepatitis C: Relative Contributions of Obesity, Diabetes Mellitus and Alcohol. *Hepatology* 2002;36:729-736
199. Cholet F, Noursbaum JB, Richecoeur M, Oger E, Cauvin JM, Lagarde N, Robaszekiewicz M and Gouerou H. Factors associated with liver steatosis and fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterol Clin Biol* 2004;28:272-278
200. Adinolfi LE, Gambardella M, Andreana A, Tripodo MF, Utili R and Ruggiero G. Steatosis Accelerates the Progression of Liver Damage of Chronic Hepatitis C Patients and Correlates With Specific HCV Genotype and Visceral Obesity. *Hepatology* 2011;33:1358-1364
201. Hourigan LF, Macdonald GA, Purdie D, Whitehall VH, Shorthouse C, Clouston A and Powell EE. Fibrosis in Chronic Hepatitis C Correlates Significantly With Body Mass Index and Steatosis. *Hepatology* 1999;29:1215-1219
202. Hwang SJ, Luo JC, Chu CW, Lai CR, Lu CL and al. Hepatic steatosis in chronic hepatitis C virus infection : Prevalence and clinical correlation. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2001;16:190-195
203. Sharma P, Balan V, Hernandez J, Rosati M, Williams J et al. Hepatic Steatosis in Hepatitis C Virus Genotype 3 Infection: Does It Correlate with Body Mass Index, Fibrosis and HCV Risk Factors? *Dig Dis Sci* 2004;49:25-29
204. Poynard T, Ratziu V, McHutchison J, Manns M, Goodman Z, Zeuzem S, Younossi Z and Albrecht J. Effect of Treatment With Peginterferon or Interferon Alfa-2b and Ribavirin on Steatosis in Patients Infected With Hepatitis C. *Hepatology* 2003;38:75-78

205. Patton HM, Patel K, Behling C, Bylund D, Blatt LM et al. The impact of steatosis on disease progression and early and sustained treatment response in chronic hepatitis C patients. *Journal of Hepatology* 2004;40:484-490
206. Kumar D, Farrell GC, Fung C and George J. Hepatitis C Virus Genotype 3 Is Cytopathic to Hepatocytes: Reversal of Hepatic Steatosis After Sustained Therapeutic Response. *Hepatology* 2002;36:1266-1272
207. Harrison SA, Brunt EM, Qazi RA, Oliver DA, Neuschwander-Tetri BA et al. Effect of Significant Histologic Steatosis or Steatohepatitis on Response to Antiviral Therapy in Patients With Chronic Hepatitis C. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2005;3:604-609
208. Szanto P, Grigorescu M, Dumitra I and Serban A. Steatosis in Hepatitis C Virus Infection. Response to Anti-Viral Therapy. *J Gastrointest Liver Dis* 2006;15(2):117-124
209. Soresi M, Tripi S, Franco V, Giannitrapani L, Alessandri R et al. Impact of liver steatosis on the antiviral response in the hepatitis C virus-associated chronic hepatitis. *Liver International* 2006;26:1119-1125
210. Thomopoulos KC, Theocharis GJ, Tsamantas AC, Siagris D, Dimitropoulou D et al. Liver steatosis is an independent risk factor for treatment failure in patients with chronic hepatitis C. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005;17:149-153
211. JianWu Y, ShuChen L, Gui-Qiang W. Effects of fatty liver and related factors on the efficacy of combination antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C. *Liver International* 2006;26:166-172
212. Abdel-Aziz M, Abdel-Aziz A, El-Arman M. Non Alcoholic Fatty Liver Diseases in Chronic Hepatitis C: Impact on End Treatment Virologic Response. *International Journal of Collaborative Research on Internal Medicine & Public Health* 2009;1(9):215-231
213. Fabris P, Florean A, Carlotto A, Baldos V, Bozzola L et al. Impact of liver steatosis on virological response in elderly Italian patients with chronic hepatitis C treated with peg-interferon alpha-2b plus ribavirin. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;21:1173-1178
214. Guidi M, Muratori P, Granito A, Muratori L, Pappas G et al. Hepatic steatosis in chronic hepatitis C: impact on response to anti-viral treatment with peg-interferon and ribavirin. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22:943-949
215. Hu KQ, Currie SL, Shen H, Cheung RC, Ho SB et al. Clinical Implications of Hepatic Steatosis in Patients with Chronic Hepatitis C: A Multicenter Study of U.S. Veterans. *Dig Dis Sci* 2007;52:570-578

216. Cross TJS, Quaglia A, Nolan J, Hughes S and Harrison PM. Do Steatosis and Steatohepatitis Impact on Sustained Virological Response (SVR) Rates in Patients Receiving Pegylated Interferon and Ribavirin for Chronic Hepatitis C Infection? *Journal of Medical Virology* 2010;82:958-964
217. Rodriguez-Torres M, Govindarajan S, Diago M, Morgan T, Anand B et al. Hepatic steatosis in patients with chronic hepatitis C virus genotype 2 or 3 does not affect viral response in patients treated with peginterferon alpha-2a (40KD)(PEGASYS®) plus ribavirin (COPEGUS®) for 16 or 24 weeks. *Liver International* 2008;29(2):237-241
218. Westin J, Lagging M, Dhillon AP, Norkrans G, Romero AI, Pawlotsky JM, Zeuzem S et al. Impact of Hepatic Steatosis on Viral Kinetics and Treatment Outcome During Antiviral Treatment Outcome During Antiviral Treatment of Chronic HCV Infection. *J Viral Hepatol* 2007;14(1):29-35
219. Sanyal AJ. Role of insulin resistance and hepatic steatosis in the progression of fibrosis and response to treatment in hepatitis C. *Liver International* 2011;31:23-28
220. Werling K, Schaff Z, Dinya E and Tulassay Z. Effect of Liver Steatosis on Therapeutic Response in Chronic Hepatitis C Virus Genotype 1 Infected Patients in Hungary. *Pathol Oncol Res* 2010;16:149-157
221. Khattab MA, Abdel-fattah ME, Eslam M, Abdelaleem A, Abdelaleem RA et al. Hepatic Steatosis in Genotype 4 Chronic Hepatitis C Patients Implication for Therapy. *J Clin Gastroenterol* 2010;44:707-712
222. Castera L, Hezode C, Roudot-Thoraval F, Lonjon I, Zafrani ES, Pawlotsky JM and Dhumeaux D. Effect of antiviral treatment on evolution of liver steatosis in patients with chronic hepatitis C: indirect evidence of a role of hepatitis C virus genotype 3 in steatosis. *Gut* 2004;53:420-424
223. Kuljić-Kapulica N, Jovanović D, Savić D, Ristanović E, Nožić D i Rajić R. Terapija hroničnog hepatitisa C – praćenje virusološkog odgovora. *Vojnosanit Pregl* 2010;67(11):923-927
224. Fabri M, Božić M, Delić D, Ješić R i Nožić D. Lečenje hroničnog hepatitisa C peginterferonom. *Med Pregl* 2003;56(9-10):427-430
225. Delić D. Efikasnost i sigurnost primene peginterferona alfa-2a i ribavirina kod pacijenata sa hroničnom hepatitis C virusnom infekcijom. *Med Pregl* 2006;59(9-10):415-419

226. Jovanović M, Konstantinović Lj, Kostić V, Vrbić M i Popović L. Efikasnost kombinovane terapije peginterferonom alfa-2a i ribavirinom kod intravenskih korisnika opijatnih sredstava sa hroničnim hepatitisom C. *Vojnosanit Pregl* 2009;66(10):791-795