

*Докторску дисертацију посвећујем свом оцу,
проф.др Драгољубу Поповићу†, који ми је поред осећаја љубави
и бескрајне подршке даривао и осећај значајности стручног и
академског усавршавања.*

*Неизмерну захвалност за све оно људско,
емотивно, суштинско...што ме је држало и носило даље...
напред...дугујем својој мајци Зорици и свом супругу Ивану.*

*Посебно се захваљујем проф.др Љиљани Константиновић, проф.др Велимиру
Костићу, проф.др Милијанки Крстић, проф.др Жарку Ранковићу, проф.др
Маји Јовановић и проф.др Миодрагу Врбићу на мотивацији у раду на
докторској дисертацији. Њихово вишегодишње искуство и знање обележило
је мој стручни и научно-истраживачки рад на пољу инфектологије. Искрено
се захваљујем проф.др Видосави Ђорђевић, проф.др Гордани Коцић и проф.др
Татјани Цветковић на сарадњи на пољу биохемије.*



УНИВЕРЗИТЕТ У НИШУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ



Лидија (Д) Поповић Драгоњић

**АКТИВНОСТ АНТИОКСИДАТИВНИХ
ЕНЗИМА ЕРИТРОЦИТА КОД
ПАЦИЈЕНАТА ОБОЛЕЛИХ ОД
ХРОНИЧНОГ ХЕПАТИТИСА Ц,
ЛЕЧЕНИХ ПЕГИЛОВАНИМ
ИНТЕРФЕРОНОМ АЛФА-2А И
РИБАВИРИНОМ**

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

Ниш, 2016.



UNIVERSITY OF NIŠ
FACULTY OF MEDICINE



Lidija (D) Popović Dragonjić

**ERYTHROCYTE ANTIOXIDATIVE
ENZYMES ACTIVITIES IN PATIENTS
WITH CHRONIC HEPATITIS C TREATED
WITH PEGYLATED INTERFERON ALPHA-
2A AND RIBAVIRIN**

DOCTORAL DISSERTATION

Niš, 2016.

Подаци о докторској дисертацији

Ментор:	Проф. др Маја Јовановић Специјалиста инфектологије на Клиници за инфективне болести, Клиничког центра Ниш Ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу, на предмету Инфектологија
Наслов:	Активност антиоксидативних ензима еритроцита код пацијената оболелих од хроничног хепатитиса Ц, лечених пегилованим интерфероном алфа-2а и рибавирином
Резиме:	<p>Увод: Нарушена антиоксидантна равнотежа је важан покретач настанка и прогресије хроничног хепатитиса Ц (ХХЦ). Циљ истраживања: одређивање активности антиоксидативних ензима, супероксид дигмутаза (SOD), глутатион пероксидаза (GPx) и каталазе (CAT), пре и после терапије пегилованим интерфероном алфа-2а и рибавирином и евалуација њиховог клиничког значаја као потенцијалних дијагностичких маркера стабилног вирусолошког одговора (SVR). Методе: Активност SOD, GPx и CAT, параметри функције јетре и високо сензитивни С реактивни протеин (hsCRP) одређиване су код 53 пацијента са ХХЦ пре и после терапије и 56 здравих испитаника. Резултати: Претерапијске активности SOD, GPx и CAT јесу статистички значајно ниже код пацијената са ХХЦ у поређењу са здравим испитаницима ($p < 0,001$) а после терапије су статистички значајно више ($p < 0,001$). Статистички је значајна позитивна корелација између активности SOD, GPx и CAT, пре и после терапије ($p < 0,001$) и са аминоксидотрансферазама после терапије ($p < 0,001$). После терапије, једино активност GPx статистички значајно негативно корелира са аминоксидотрансферазама ($p < 0,001$). Резултати криве оперативних карактеристика примаоца за SOD, GPx и CAT јесу: површина испод криве редом од 0,975; 0,988; 0,817; сензитивност редом 93,5%, 71,7%, 100% и специфичност 100% за сва три ензима. Четрдесет шесторо пацијената са постигнутим SVR имају значајно повећање активности SOD, GPx и CAT ($p < 0,001$ за сва три ензима), седморо су без постигнутог SVR ($p = 0,31$, $p = 0,717$, $p = 0,85$ редом). Статистички су значајно нижи нивои SOD, CAT, GPx ($p < 0,001$ за сва три ензима) пре и после терапије код пацијената: са хепатитис Ц вирусним генотипом 1 и</p>

4 у односу на генотипове 2 и 3, вишег степена фиброзе јетре у односу на нижи, који ће постићи SVR у односу на оне који неће. Статистички значајно је повишен ниво hsCRP код оболелих од ХХЦ са сниженим активностима антиоксидативних ензима ($p < 0.05$). Закључак: Нарушена антиоксидантне равнотежа је иницијатор настанка и прогресије ХХЦ. Комбинованом антивирусном терапијом постиже се њено успостављање. Ензими GPx, SOD и CAT могу бити дијагностички маркери исхода терапије.

Научна област:

Медицина

Научна
дисциплина:

Инфектологија

Кључне речи:

Антиоксидативни ензими, Хронични хепатитис Ц, Пегиловани интерферон алфа-2а, Рибавирин

УДК:

616.36-002

CERIF
класификација:

(В) БИОМЕДИЦИНСКЕ НАУКЕ В 000
Медицина (човек и кичмењаци) В007
В510 Инфекције

Тип лиценце
Креативне
заједнице:

CC BY-NC-ND

Data on Doctoral Dissertation

Doctoral Supervisor: Professor doctor Maja Jovanović
Specialist in Infectious Diseases at Clinic for Infectious Diseases, Clinical Center of Niš
Associate professor at Department of Infectology, Faculty of Medicine, University of Niš

Title: Erythrocyte antioxidative enzymes activities in patients with chronic hepatitis C treated with pegylated interferon alpha-2a and ribavirin

Abstract: Background: Antioxidant imbalance is major trigger for chronic hepatitis C (CHC) occurrence and progression. Aim: To determine the erythrocyte antioxidative enzymes activities, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) and catalase (CAT), before and after therapy with pegylated interferon alpha-2a and ribavirin and to evaluate their clinical significance as potential diagnostic markers of sustained virological response (SVR). Methods: SOD, GPx, CAT, liver function parameters and high sensitivity C reactive protein (hsCRP) levels were measured in 53 CHC patients both before and after treatment and in 56 healthy controls. Results: Baseline SOD, GPx and CAT activities were significantly lower in CHC patients compared to the controls ($p < 0.001$), and they were significantly higher after the treatment ($p < 0.001$). A significant positive correlation existed between SOD, GPx, CAT, before and after treatment ($p < 0.001$) and with aminotransferases prior to treatment ($p < 0.001$). After treatment, only GPx showed significant negative correlation with aminotransferases ($p < 0.001$). Receiver operating characteristic curve analysis results for SOD, GPx and CAT are following: area under the curve of 0.975, 0.988, 0.817; sensitivity of 93.5%, 71.7%, 100% and specificity of 100% for all, respectively. 46 SVR achievers have significant increase of SOD, GPx and CAT activities ($p < 0.001$ for all), unlike 7 SVR non-achievers ($p = 0.31$, $p = 0.717$, $p = 0.85$ respectively). SOD, CAT, GPx levels are statistically higher ($p < 0.001$ for all) in patients with: hepatitis C virus genotypes 1 and 4 compared to genotypes 2 and 3, higher levels of fibrosis compared to lower, SVR achievers compared to SVR non-achievers. HsCRP levels are significantly raised in CHC patients with decreased antioxidant enzymes activities ($p < 0.05$). Conclusion: Antioxidant imbalance is the initiator of onset and progression of CHC. The combined antiviral therapy leads to the restoration of antioxidant balance. GPx, SOD and CAT may be diagnostic markers of treatment outcome.

Scientific Field: Medicine

Scientific Discipline: Infectology

Key Words: Antioxidative enzymes, Chronic hepatitis C, Pegylated interferon alpha-2a, Ribavirin

UDC: 616.36-002

CERIF Classification: **(B) BIOMEDICAL SCIENCES B 000**
Medicine (human and vertebrates) B007
B510 Infections

Creative Commons License Type: **CC BY-NC-ND**

САДРЖАЈ

Увод	11
1. Преглед литературе	12
1.1. Историјат хепатитис Ц вирусне инфекције	12
1.2. Структура вируса	12
1.3. Епидемиологија хепатитис Ц вирусне инфекције	16
1.4. Облици и прогресија болести	19
1.5. Екстрахепатичне манифестације у хроничној хепатитис Ц вирусној инфекцији	22
1.6. Репликација вируса хепатитиса Ц	23
1.7. Имунопатогенеза хепатитис Ц вирусне инфекције	25
1.8. Дијагноза хепатитис Ц вирусне инфекције	28
1.9. Терапија хепатитис Ц вирусне инфекције	31
1.10. Оксидативни стрес у хроничној хепатитис Ц вирусној Инфекцији	38
1.10.1. Оксидативни стрес	38
1.10.2. Хепатитис Ц и оксидативни стрес	39
2. Циљеви истраживања	45
3. Научна хипотеза	46
4. Испитаници, материјал и методе	48
4.1. Испитаници, критеријуми за укључење у студију и материјал	48
4.2. Методе	49
4.2.1. Одређивање активности SOD, CAT и GPx	50
4.2.2. Одређивање стандардних биохемијских параметара	51
4.2.3. Патохистолошка обрада и евалуација	51
4.2.4. Вирусолошке анализе	51
4.2.5. Статистичка обрада података	52
5. Резултати истраживања	53

5.1. Резултати анализе општих карактеристика испитивањем обухваћених оболелих од хроничног хепатитиса Ц	53
5.1.1. Демографске карактеристике	53
5.1.2. Хистолошки показатељи болести код оболелих од хроничног хепатитиса Ц	55
5.1.3. Вирусолошке карактеристике оболелих од хроничног хепатитиса Ц	55
5.2. Резултати анализе активности антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на контролну групу	57
5.3. Резултати анализе активности антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц пре и после терапије пегилованим интерфероном алфа-2а и рибавирином	63
5.4. Резултати анализе базичних и посттерапијских активности антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на исход терапије	71
5.5. Резултати анализе активности антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на генотип вируса хепатитиса Ц	80
5.5.1. Испитивање демографских и хистолошких карактеристика у односу на генотип вируса хепатитиса Ц	80
5.5.2. Испитивање базичних и посттерапијских активности антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц код групе испитаника са генотипом 1 и генотипом 4 вируса хепатитиса Ц и групе испитаника са генотипом 2 и генотипом 3 вируса хепатитиса Ц	82

5.6. Резултати анализе активности антиоксидативних ензима и параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на степен фиброзе јетре	92
5.6.1. Испитивање демографских, хистолошких карактеристика, базичних и посттерапијских активности антиоксидативних ензима у односу на степен фиброзе јетре	92
5.6.2. Испитивање базичних и посттерапијских активности антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на степен фиброзе јетре	95
5.7. Резултати анализе базичних и посттерапијских активности антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на hsCRP	105
5.8. Резултати анализе базичних активности антиоксидативних ензима у односу на базични ниво ХЦВ РНК (viral load)	108
5.9. Предиктивна вредност, сензитивност и специфичност антиоксидативних ензима у погледу постизања стабилног вирусолошког одговора	110
6. Дискусија	
6.1. Демографске карактеристике оболелих од хроничног хепатитиса Ц	113
6.2. Хистолошке карактеристике јетре код оболелих од хроничног хепатитиса Ц	113
6.3. Вирусолошке карактеристике оболелих од хроничног хепатитиса Ц	114
6.4. Базичне и посттерапијске вредности биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц	117
6.5. Базичне и посттерапијске активности антиоксидативних ензима код оболелих од хроничног хепатитиса Ц	118

6.6. Активност антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на исход терапије (стабилни вирусолошки одговор)	127
6.7. Активност антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на генотип вируса	128
6.8. Активност антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на степен фиброзе јетре	131
6.9. Активност антиоксидативних ензима и параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на вредност hsCRP	132
6.10. Базична активност антиоксидативних ензима у односу на базични ниво ХЦВ РНК	133
6.11. Антиоксидативни ензими као предиктивни фактор стабилног вирусолошког одговора и њихова сензитивност и специфичност	134
7. Закључци	137
Литература	139
Списак скраћеница	159
Биографија аутора	167
Изјаве аутора	168

Увод

Иако су се претходној деценији сазнања о хепатитису Ц у великој мери проширила, и даље је остало још много недоумица која се тичу трансмисије, превенције, прогресије болести и терапије (1).

Вирус хепатитиса Ц (ХЦВ) напада антивирусну одбрану домаћина механизмима који нису до краја разјашњени и успоставља перзистентну инфекцију код већине пацијената. Перзистентна ХЦВ инфекција је водећи узрок хроничног хепатитиса Ц (ХХЦ), цирозе јетре и хепатоцелуларног карцинома (ХЦЦ). Због тога је унапређивање терапијског протокола за ХЦВ инфекцију горући проблем широм света. Иако се доста сазнало о организацији ХЦВ генома, процесирању полипротеина, функцији и структури ХЦВ протеина, још увек недостају одговори на многа кључна питања (2). Основни значај овог истраживања јесте давање препоруке за започињање терапије ХХЦ у смислу процене подобности потенцијалног кандидата за одређени вид терапије и прогресије болести у односу на базични антиоксидативни статус. Очекивани оригинални допринос се огледа и у анализи патогенезе ХХЦ посматране кроз призму оксидативног стреса, то јест, нарушене антиоксидативне равнотеже. Испитивање активности антиоксидативних ензима у контексту неколико основних параметара ХЦВ инфекције (генотип, viral load, степен фиброзе) и одговора на терапију може бити значајно у разумевању патогенетских принципа ХХЦ али и предикције одговора на терапију.

1. Преглед литературе

1.1. Историјат хепатитис Ц вирусне инфекције

Немогуће је са сигурношћу тврдити од када датира хепатитис Ц, јер не постоје сачувани узорци крви старији од 50 година, који би се тестирали на ХЦВ. Имајући у виду природу еволуције свих вируса, хепатитис Ц постоји вероватно стотинама или чак и хиљадама година. Пошто се вирус хепатитиса Г, иначе близак рођак ХЦВ, трасира код примата Старог и Новог света, спекулише се да и почеци ХЦВ могу датирати и уназад 35 милиона година. На чвршћим доказима засноване су претпоставке да различити субтипови постоје око 200 година, а да шест главних генотипова, који највероватније имају заједничког претка, постоје отприлике 400 година (1).

Вирус хепатитиса Ц припада великој фамилији *Flaviviridae*, роду *Hepacivirus*. Открио га је средином осамдесетих година Harvey James Alter, шеф одсека за инфективне болести одељења за трансфузиологију, америчког Националног института за здравље. Заједно са својим тимом, доказао је да већина посттрансфузионих хепатитиса није изазвана вирусом хепатитиса А и вирусом хепатитиса Б (нон-А нон-Б хепатитис) (3). На основу доказивања његове трансмисије на шимпанзе, проучавања електронском микроскопијом и осетљивости на хлороформ, претпостављало се да је етиолошки агенс хепатитиса Ц мали вирус са омотачем. Са успехом молекуларног клонирања вирусног генома касних осамдесетих година двадесетог века, настао је и есеј за серолошку дијагностику инфекције вирусом хепатитиса Ц (2).

1.2. Структура вируса

Постоји шест главних генотипова ХЦВ и велики број субтипова у оквиру сваког генотипа (Табела 1) (4).

Табела 1. Систем класификације ХЦВ генотипова

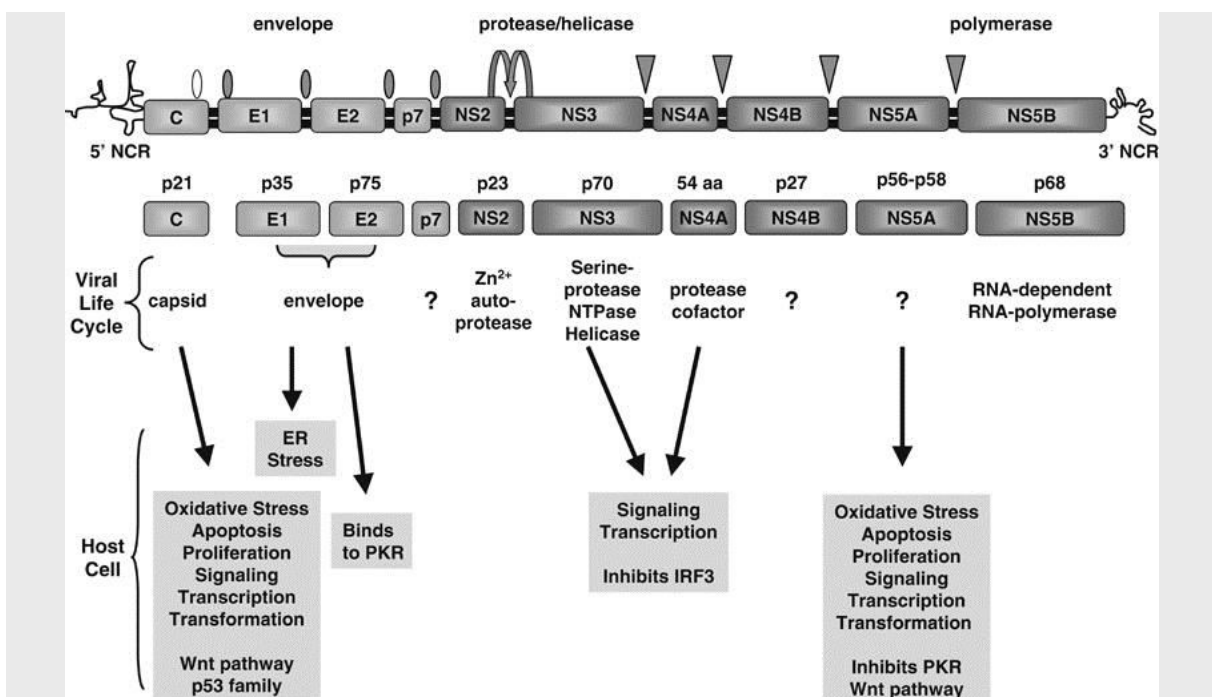
Okamoto et al.	Enomoto et al.	Simmonds et al.	Cha et al.	Консензус (Simmonds et al, Letter)- препоручена класификација	Примери изолата
I	PT	1a	I	1a	HCV-1, HCV-H
II	K1	1b	II	1b	HCV-J, HCV-JT, HCV-BK
				1c	HC-G9, YS-117
III	K2a	2a	III	2a	HC-J6, HC-J5, HCV-K2a
IV	K2b	2b	III	2b	HC-J8, HC-J7, HCV-K2b
			III	2c	S-83, T-983
V		3	IV	3a	HCV-K3a, T-1, T-7
VI			IV	3b	HCV-TR, T-9, T-10
		4		4a	Z4, Z8, Z5, Syr1, Syr2, N5, Cam600, Z1, N1, N2, DK13
			V	5a	SA-1, SA-7
				6a	HK-2

Табела позајмљена из: Zein NN. Clinical significance of Hepatitis C Virus genotypes. Clin Microbiol Rev 2000; 13(2):223-35.

За велику генетску разноликост ХЦВ сојева одговорни су висока стопа репликације вируса као информациона рибонуклеинска киселина (иРНК, mRNA) полимеразе склона грешкама (5). Разлике у вирусном геному одређују се на основу разлике у 5'UTR секвенцама, core, NS3 или NS5 региона. Разлике у геному вируса између појединих типова варирају од 28 до 44%, а између појединих подтипова од 12 до 22%. Између чланова истог подтипа постоји разлика у геному од 0 до 12%. Ова варијабилност унутар истог подтипа дефинише се као квазиспецијес. Квазиспецијес означава генетичку хетерогеност вируса код инфициране особе. Постојање квазиспецијеса је једно од могућих објашњења механизма којим вирус избегава имунски одговор домаћина и перзистирања инфекције (6).

Вириони ХЦВ имају сферични омотач, који се састоји из тетрамера ХЦВ Е1 и Е2 гликопротеина. Унутар вириона налази се нуклеокапсид или срж (core), сферична структура који садржи вирусни геном (7).

Геном ХЦВ састоји се од 9.6 кб једноланчане рибонуклеинске киселине (РНК), позитивно поларисане, која служи као mRNA у транслацији вирусних протеина. Овај линеарни молекул садржи један оквир читања, open reading frame (ORF) за кодирање прекурсора полипротеина из отприлике три хиљаде резидуа аминокиселина, окружен двома регулаторним регионима која не подлежу транслацији (Слика 1) (8).



Слика 1. Организација ХЦВ генома и обрада полипротеина (позајмљено из: Levrero

M. Viral hepatitis and liver cancer: the case of hepatitis C. *Oncogene* 2006; 25: 3834-47). *Envelope-омотач*, *protease-протеаза*, *helicase-хеликаза*, *polymerase-полимераза*, *capsid-капсид*, *auto-protease-ауто протеаза*, *serine-protease-серинска протеаза*, *protease cofactor-кофактор протеазе*, *RNA-dependent RNA-polymerase – РНК зависна РНК полимераза*, *ER stress-ендоплазматско ретикулумски стрес*, *Oxidative stress-оксидативни стрес*, *apoptosis-апоптоза*, *proliferation-пролиферација*, *signalling-сигнализација*, *transcription-транскрипција*, *transformation-трансформација*, *Wnt pathway- Wnt пут*, *p53 family- p53 фамилија*, *Binds to PKR- везе се за PKR*, *Inhibits IRF3- инхибира IRF3*, *Inhibits PKR- инхибира PKR*.

Језгро вируса обавијено је са два омотача: протеински, енкодиран од самог вируса, и липопротеински, који садржи липиде пореклом од ћелије домаћина. Под електронским микроскопом у ткиву јетре се запажају две врсте вирусних честица: веће вирусне честице (мајор облик) су пречника 50-75 нм и представљају комплетан вирион и мање честице (минор облик) пречника 45-55 нм, које су највероватније инкомплетан

вирион (6). У серуму је око 70% већих честица (мајор облик), а око 30% минор облик (дефектни вирион). Геном вируса чине следећи региони: 5' некодирајући регион (5' UTR), регион који кодира синтезу структурних протеина (S регион), регион који кодира синтезу неструктурних протеина (NS регион) и 3' некодирајући регион (3'UTR). Структурни протеини који формирају вирусну честицу настају од полипептидног ланца деловањем хелијских протеаза. Неструктурни протеини учествују у вирусној репликацији и сви се од полипептидног ланца одвајају деловањем вирусних ензима. Структурни протеини су: Core протеин, гликопротеин омотача E1 (envelope glycoprotein 1) и гликопротеин омотача E2 (envelope glycoprotein 2) и p7 полипептид. Неструктурни протеини су: неструктурни протеин 2 (NS2), неструктурни протеин 3 (NS3), неструктурни протеин 4A (NS4A), неструктурни протеин 4B (NS4B), неструктурни протеин 5A (NS5A), неструктурни протеин 5B (NS5B) (6). Транслација ХЦВ полипротеина започиње учешћем домена у NTR. Крајњи производ, полипротеин, садржи десет протеина који су током или после транслације исечени из полипротеина. Core протеин или протеин сржи (21 кд) формира капсид, учествује у регулацији транслације, репликације RNA и здруживању партикула вируса. Протеин Ф (frameshit protein или AFR protein, alternate reading frame protein), (16-17 кд) је продукт рибозомалног frameshift процеса током транслације у регији кодирања core протеина. Гликопротеин E1 (35 кд) и гликопротеин E2, (70 кд) су трансмембрански гликопротеини у вирусном омотачу. Учествују у адсорпцији и рецептор-посредованој ендоцитози. Протеин P7 (7 кд) формира јонски канал у ендоплазматском ретикулуму, битан је у формирању инфективних вириона. NS2 (21 кд) је део NS2-3 протеазе која катализује исецање полипротеинског прекурсора између NS2 и NS3. Протеин NS3 (70 кд) је NS2-NS3 протеаза, која учествује у исецању ХЦВ протеина доњег дела ланца. Има ензимску активност АТР-азе (аденозин три фосфат (АТР)) и хеликазе, у везивању и одвијању вирусне РНК. Протеин NS4A (4 кд) је кофактор NS3-NS4A протеазе. Протеин NS4B (27 кд) има улогу у репликацији ХЦВ. Индукује мембранску мрежу у ендоплазматском ретикулуму током репликације. Протеин NS5A (56 кд) је мултифункционални фосфопротеин. Садржи детерминишући регион за сензитивност према интерферону алфа, *interferon sensitive determining region (ISDR)*. Протеин NS5B (66 кд) је РНК полимераза, ензим склон грешци, који инкорпорира погрешне рибонуклеотиде, стопом од 10^{-3} по нуклеотиду по генерацији (8).

Геном ХЦВ показује велику хетерогеност, што се тумачи великим бројем грешака у процесу транскрипције и недостатка репарационих механизма.

Најстабилнији део вирусне РНК су 5'UTR и С ген, а најваријабилнији су E1, NS2 и E2/NS1 (6).

1.3. Епидемиологија хепатитис Ц вирусне инфекције

Још од открића 1989, хепатитис Ц вирус сматра се главним узроком хроничног обољења јетре широм света. Светска епидемија хепатитиса Ц почела је трансмисијом инфекције путем трансфузије, средином двадесетог века, а кулминирала осамдесетих година двадесетог века, у популацији интравенских корисника дрога. Најскорије процене Светске здравствене организације, World Health Organization (WHO) преваленце ХЦВ инфекције је 2%, што значи 123 милиона људи (9). Подаци ранијих истраживања говоре у прилог чак веће преваленце од 3% и укупног броја заражених људи у свету од 170 милиона (10).

Вирус хепатитиса Ц је водећи узрок трансплантације јетре у развијеним земљама и најчешћа крвљу преносива болест у САД. Иако је ХЦВ инфекција распрострањена широм света, она показује велики степен географске варијабилности у својој дистрибуцији (10).

❖ Преваленција инфекције вирусом хепатитиса Ц

Државе са највећим степеном преваленције налазе се у Африци и Азији, регије са нижом преваленцијом обухватају индустријализоване нације у Северној Америци, северној и западној Европи и Аустралији. Нације развијеног света са релативно ниским стопама ХЦВ серопреваленције укључују Немачку (0 • 6%) , Канаду (0 • 8%) (11), Француску (1 • 1%) (12) и Аустралију (1 • 1%) (13, 14). Ниске, али благо више, стопе серопреваленције од поменутих имају САД (1 • 8%) (15), Јапан (1 • 5% - 2 • 3%) (16) и Италија (2 • 2%) (17). Разликују се процене преваленције ХЦВ инфекције земаља у развоју, и уопште, мање је расположивих података у односу на развијене земље. Кина има серопреваленцију од 3 • 2% (18), а Индија 0 • 9% (19). Стопа преваленције у Индонезији је 2 • 1% (20). Стопа преваленције у Пакистану износи између 2 • 4% и 6 • 5% (21). Египат има највећу пријављену серопреваленцију од 22% (22). Преваленција у нашој земљи, код добровољних давалаца крви, креће се од 0.3% до 0.7%. Ипак, треба назначити, да се преваленција ХЦВ инфекције одређује испитивањем прокужености код добровољних давалаца крви, што је само приближан показатељ присуства болести

у општој популацији. Из добровољног давалаштва крви искључују се особе које имају повећан ризик за крвно-трансмисивне болести, хронични болесници, особе млађе од 18 година и старије од 65 година (6).

❖ Инциденција инфекције вирусом хепатитиса Ц

Тешко је установити инциденцију ХЦВ инфекције зато што је највећи део инфекција асимптоматски а расположиви есеји не разликују акутну од хроничне форме или прележане инфекције. У САД, Центар за контролу и превенцију болести је модификовао трендове у одређивању ХЦВ инциденције користећи извештаје из старосно одређених случајева акутне болести и податке из националних студија пресека од 1988 до 1994 (15, 23). Овим моделом је приказан период ниске инциденције (0-44 на 100000) пре 1965, транзициони период повећања инциденције између 1965 и 1980, као и период високе инциденције у 1980, (100-200 на 100000) (24). Сличне податке приказују Француска и Аустралија, с тим што у Аустралији инциденца расте до 2001, а у САД нагло пада од 1990 (12, 13).

❖ Пuteви трансмисије инфекције вирусом хепатитиса Ц

Најчешће помињани фактори ризика за трансмисију ХЦВ јесу: трансфузије крви, интравенски унос дроге (доминантан пут преноса последњих деценија), небезбедне инјекционе терапијске процедуре и разне остале терапијске процедуре (чешће у земљама у развоју него у развијеним земљама) (25). Интравенски унос дроге је примарни начин трансмисије ХЦВ инфекције у развијеном свету. У САД и Аустралији је доминантан преко 30 година и чини између 68% и 80%. Преваленција ХЦВ инфекције износи између 64% и 94 % код наркомана који дрогу инјектирају преко 6 година, али серопреваленција код оних који дрогу користе интравенски мање од једне године износи чак 65% (26). Скорија истраживања пријављују мању серопреваленцију од 20-46% код интравенских корисника дроге са стажом од 5 година и мањим (27). Светска здравствена организација процењује да небезбедне инјекционе процедуре броје око 2 милиона нових ХЦВ инфекција у 2000, најчешће на Блиском истоку, Југоисточној Азији и западном Пацифику. Захваљујући *all-volunteer* (добровољном) донорском систему, у развијеним земљама више нема трансмисије путем трансфузије, за разлику од земаља у развоју (28). Други, много ређи, путеви трансмисије ХЦВ могу бити професионални (медицински радници), перинатални

(ризик износи 5%, а није доказано да га царски рез смањује), сексуални (ризик расте са повећањем броја ХЦВ позитивних партнера, нарочито код MSM (man sex man, хомосексуалци) популације, козметичке процедуре и све остале које укључују прекид континуитета коже (tattoo, пирсинзи, акупунктура, религијска скарификација, братимљење) (29).

После могуће експозиције ХЦВ инфекцији, саветује се базично тестирање на анти-ХЦВ антитела и одређивање активности аланин аминотрансфразе (ALT). Ове анализе треба поновити после 4-6 месеци. Тестирање на ХЦВ РНК у 4-6. недељи даје могућност постављања ране дијагнозе (6).

Пацијенти на хемодијализи као и пацијенти оболели од хемофилије су у повећаном ризику од добијања ХЦВ инфекције, у земљама у развоју и неразвијеним земљама (30).

Код болесника у Србији, интравенска наркоманија је најчешћи начин трансмисије ХЦВ инфекције (30% инфицираних). Сигнификантно чешће, мушкарци су добијали ХЦВ инфекцију интравенским коришћењем дроге или пирсингом, док су се жене најчешће инфицирале због професионалног ризика (31). У периоду од 2005-2009. године у циљу утврђивања анти-ХЦВ антитела у Саветовалишту за ХИВ и хепатитисе Института за јавно здравље Војводине тестирано је укупно 3868 особа са различитим факторима ризика. Од укупног броја тестираних особа на анти-ХЦВ 63,2% су били мушког и 36,8% особа женског пола. У узрасној структури клијената Саветовалишта највише тестираних припадало је узрасној категорији од 20-29 година. Највећи број тестираних клијената (60,1%) је као фактор ризика навео хетеросексуални однос без заштите, затим су следили интравенски/интраназални корисници дрога са 34,8%. Преваленција анти-ХЦВ антитела била је највиша у узрасту од 30-39 година. У односу на анализиране факторе ризика, највиша преваленција забележена је међу интравенским/интраназалним корисницима дрога – 28,1%, а најмања међу особама које су као фактор ризика навеле сексуални однос – 1,6%. У 2008. години је преваленција анти-ХЦВ антитела међу тестираним интравенским корисницима дрога износила 32,5%, међу сексуалним партнерима анти-ХЦВ позитивних особа 9,4%, а међу пацијентима на дијализи 6,0%. На значај интравенске употребе дрога указују подаци из сероепидемиолошких истраживања међу интравенским корисницима дрога у Новом Саду, Нишу и Београду, са утврђеном преваленцом од 45%, 50%, односно 75%

случајева акутног хепатитиса Ц регистровано је код интравенских корисника дрога (32).

Пренос ХЦВ инфекције са инфициране мајке на новорођенче није чест, али је могућ, јер је репликација вируса доказана у пуерпералној течности. Стопа вертикалне трансмисије је у просеку око 5%. Ризик од вертикалне трансмисије присутан је током целе трудноће, али најризичнији тренутак за пренос инфекције је у току проласка плода кроз порођајни канал. Амниоцентеза, као и остале инвазивне процедуре у пренаталној дијагностици, удружене су са повећаним ризиком за вертикални пренос ХЦВ инфекције. Није доказано да Царски рез смањује учесталост преноса ХЦВ инфекције. Сматра се да дојење није фактор ризика за пренос ХЦВ инфекције (6).

❖ Инфективност и отпорност вируса

Инфективност вируса хепатитиса Ц је обично ниска. Ниво виремије код болесника са хроничном ХЦВ инфекцијом је од 5×10^5 до 5×10^8 копија у 1 мл крви. Дневна продукција у инфицираној јетри износи око 10^{12} вириона. Полуживот слободног комплетног вириона износи 2-3 сата, а дневни губитак је око 12×10^6 вириона. Вирус је доказан у готово свим телесним течностима (6).

Вирус је отпоран на ниске температуре, а на собној температури преживљава од 16 сати до 4 дана. Излагање температури од 56°C инактивира вирус за 40 минута, а температура од 65°C инактивира вирус у року од 4 минута. Вирус хепатитиса Ц је осетљив на замрзавање и одмрзавање, деловање јонизујућег и ултраљубичастиг зрачења. Липопротеински омотач вируса чини га осетљивим на органске раствараче и детергенте (нпр. 70% раствор етанола) (6).

1.4. Облици и прогресија болести

Ток ХЦВ инфекције се може поделити у две фазе: акутни хепатитис и хронични хепатитис.

❖ Акутни хепатитис

Инкубациони период, након инокулације ХЦВ је варијабилан. ХЦВ РНК се у крви или јетри може детектовати polymerase chain reaction (PCR) методом у периоду од

неколико дана до осам недеља (33). Аминотрансферазна активност расте у просеку између 6. и 12. недеље по експозицији (минимум 1, максимално 26 недеља), и најчешће су 10-30 пута увећане од горње референтне границе. Антитела на вирус хепатитиса Ц се могу детектовати отприлике 8 недеља по експозицији али и после неколико месеци. Највећи део новоинфицираних биће без симптома. Мањи број пацијената са симптомима осетиће малаксалост, мучнину и бол у горњем десном квадранту абдомена. Код њих болест траје обично 2-12 недеља. Са повлачењем клиничких симптома, пада и аминотрансферазна активност. Губитак ХЦВ РНК, који означава излечење, јавља се у мање од 20% пацијената. Фулминантни отказ јетре може се јавити код пацијената са већ постојећом инфекцијом хепатитис Б вирусом (ХБВ) (34).

❖ Хронични хепатитис

Отприлике 75% и више пацијената са акутним хепатитисом Ц никад не елиминишу ХЦВ РНК и развију хроничну форму болести, након шест месеци. Већина њих ће имати константно повишену аминотрансферазну активност у даљем току. Већина пацијената са ХХЦ уопште немају или имају само благе неспецифичне симптоме, све док се не развије цироза (35, 36). Обично осећају мучнину, слабост, болове у мишићима и зглобовима и губитак тежине (36). Аминотрансферазна активност може да варира. Неколико је кофактора удружених са убрзаном прогресијом болести, у смислу фиброзе и цирозе јетре, и развоја ХЦЦ. У њих спадају: мушки пол, старија животна доб у време добијања ХЦВ инфекције (старији од 40-55 година), гојазност, коинфекције (вирусом хумане имунодефицијенције (ХИВ), ХБВ), конзумација алкохола и марихуане (чак и умерена), употреба стероида, етничко порекло (спорија прогресија код црне расе) (37, 38, 39, 40, 41).

Ризик од развоја цирозе у периоду од 20 година процењује се на око 10-50% (42, 43). Ризик од декомпензације је процењен на 5% годишње. Када наступи декомпензација, петогодишњи период преживљавања износи 50% (44).

За прогнозу болести пацијената са цирозом и стадирање користе се MELD скоровање (Model for End Stage Liver Disease) (45) и Child-Pugh класификација (46).

Model for End Stage Liver Disease користи вредности серумског билирубина, серумског креатинина, интернационалног нормализованог односа протромбинског

времена (INR) да предвиди преживљавање. Израчунава се према следећој формули (45):

$$\text{MELD} = 3.78[\text{Ln серумски билирубин (mg/dL)}] + 11.2[\text{Ln INR}] + 9.57[\text{Ln серумски креатинин (mg/dL)}] + 6.43$$

Скор се модификује у случајевима када се пацијент дијализира два пута недељно, те се користи вредност серумског креатинина од 4.0; свим вредностима мањим од један приписује се вредност 1 (због израчунавања логаритма) (45).

Интерпретирањем MELD скорa код хоспитализованих пацијената, тромесечно преживљавање износи (45):

- 40 или више — 71.3% смртности
- 30–39 — 52.6% смртности
- 20–29 — 19.6% смртности
- 10–19 — 6.0% смртности
- <9 — 1.9% смртности (45)

Термин MELD и скоровање је првобитно утврђено на клиници Мауо, и тада је скраћеница значила Mayo End Stage Liver Disease. Потреба за скоровањем проистекла је од низа пацијената који су припремани за трансплантацију јетре. Оригинална верзија обухватала је и варијаблу засновану на етиологији обољења јетре. Резултат (скор) је био предиктиван у прогнози хроничног обољења јетре уопште и употребљив као инструмент за одређивање потребе за трансплантацијом јетре (45).

Још од 1970, стандард Child-Pugh класификација била је стандард за одређивање степена обољења јетре код пацијената са цирозом. Ова класификација заснована је на бодовању према вредностима серумског билирубина и албумина, протромбинског времена и степена изражености енцефалопатије и асцитеса, при чему коначни скор одражава степен компензованости јетре, на основу чега се предвиђа проценат једногодишњег и двогодишњег преживљавања (Табела 2 и Табела 3) (46).

Табела 2. Child-Pugh класификација степена обољења јетре код пацијената са цирозом јетре

Параметар	Бодови		
	1	2	3
Асцитес	Одсутан	Благи	Умерени
Билирубин, mg/dL	≤ 2	2-3	>3
Албумин, g/dL	>3.5	2.8-3.5	<2.8
Протромбинско време * Секунде * INR	1-3 <1.8	4-6 1.8-2.3	>6 >2.3
Енцефалопатија	Одсутна	Степен 1-2	Степен 3-4

Табела 3. Предвиђање преживљавања код пацијената са цирозом јетре

Степен	Бодови	Једногодишње преживљавање (%)	Двогодишње преживљавање (%)
А: добро компензована болест	5-6	100	85
В: значајна функционална компромитованост	7-9	80	60
С: декомпензовано стање	10-15	45	35

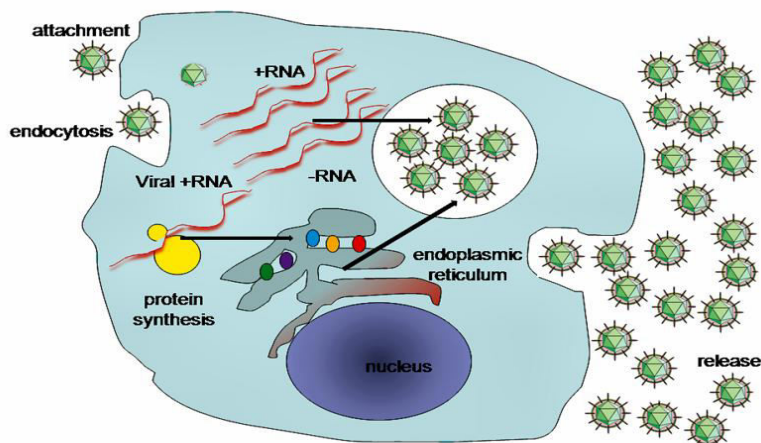
1.5. Екстрахепатичне манифестације у хроничној хепатитис Ц вирусној инфекцији

Вирус хепатитиса Ц одговоран је за дугачак низ екстрахепатичних манифестација. Вирус хепатитиса Ц интерферира са цитокинима на различитим нивоима и избегава имунски одговор индукујући Т-хелперски (Th2)/Т цитотоксични 2 цитокински профил. Дејством интерферон гама индукујућег СХС хемокинског лиганда за хемокине 9, 10 и 11, долази до немогућности да се инфекција контролише. То резултује концентрисањем инфламаторних инфилтрата у паренхиму јетре, непрестаним оштећењем јетре и евентуално, цирозом јетре. Ова комплексна дисрегулација цитокинско/хемокинске мреже обухвата проинфламаторне и Th1 хемокине. Терапија цитокинима, као што је интерферон алфа, доводи до смањења концентрације вируса у крви током перзистентне инфекције и реверзије процеса (47).

Патогенетска веза између дејства вируса и појаве неких од екстрахепатичних болести за сада још увек није довољно објашњена. Код 40-76% пацијената са ХЦВ то је мултиорганска болест. Најчешће, до сада описане, екстрахепатичне манифестације ХЦВ инфекције јесу: хематолошке (мешовита криоглобулинемија, апластична анемија, тромбоцитопенија, нон-Хоџкинов лимфом), дерматолошке (порфирија кутанеа тарда, лихен планус, кожни некротизирајући васкулитис), бубрежне (гломерулонофритис, нефротски синдром), ендокрине (појава антитиреоидних антитела у крви, дијабетес), плувачне (сијалоаденитис), очне (улкус рожњаче, увеитис), васкуларне (некротизирајући васкулитис, полиартеритис нодоза), неуромускуларне (мијалгија, периферна неуропатија, артритис), психичке (анксиозност, депресија). Патогенетска веза између ХЦВ и неких екстрахепатичких манифестација потврђена је одговором на антивирусну терапију. Ипак, има неких код којих је терапија неефективна или чак контраиндикована. Класификација екстрахепатичких манифестација на основу патогенетске везе између дејства вируса и настанка истих, дели их у следеће групе: група А – повезаност је доказана на основу високе преваленције и патогенезе, и ту спада: мешана криоглобулинемија (19-50% оболелих); група Б – повезаност је доказана на основу високе преваленције, ту спадају: Б-ћелијски нон-Хоџкинов лимфом, моноклонална гамапатија, порфирија кутанеа тарда, лихен планус; група Ц – повезаност која мора бити потврђена, ту спадају: аутоимунски тиреоидитис, тумор тироидеје, синдром сика, алвеолитис (фиброза плућа), дијабетес мелитус, не-криоглобулинемијска нефропатија, аортна атеросклероза; група Д – анегдотска запажања, ту спадају: псоријаза, периферна и централна неуропатија, хронични полиартеритис, реуматоидни артритис, нодозни полиартеритис, Бехчетов синдром, поли/дерматомиозитис, фибромијалгија, хронична уртикарија, хронични пруритус, Капошијев псевдосарком, витилиго, кардиомиопатија, Мооренов корнеални улкус, еректилна дисфункција, акрални некролитички еритем (48).

1.6. Репликација вируса хепатитиса Ц

Тачан механизам репликације није у потпуности разјашњен (Слика 2). Изгледа да се, слично другим флавивирусима, ХЦВ РНК репликује директно РНК-РНК механизмом, те није могуће открити интермедијалну ДНК у серуму или јетри инфицираних особа. Репликација вируса доказана је, не само у хепатоцитима, већ и у



Слика 2. Животни циклус вируса хепатитиса Ц

Позајмљено из: Wikipedia, the free encyclopedia,
https://en.wikipedia.org/wiki/Hepatitis_C_virus

Attachment - припајање, *endocytosis*-ендоцитоза, *protein synthesis*-синтеза протеина, *nucleus*-једро, *endoplasmic reticulum* –ендоплазматски ретикулум, *viral RNA*-вирусна рибонуклеинска киселина, *RNA*-рибонуклеинска киселина, *release*-ослобађање.

Да би вирус ушао у ћелију домаћина, прво се LDL компонента веже за low density lipoprotein (LDL) рецептор, (LDL-R) на површини ћелије. Истовремено вирусни гликопротеини интерреагују са ћелијским гликозаминогликанима (49, 50). Даље се дешава интеракција ХЦВ са scavenger рецепторима типа I (SR-BI) и тетраспанином CD81 (cluster of differentiation (CD)) (51). Вирус се даље преноси кроз “уске ћелијске спојеве”, чије компоненте, Claudin 1 (CLDN1) и Occluding (OCLN) интерреагују са ХЦВ. Тиме се индукује интернализација вириона, и то клатринима-посредованом ендоцитозом (52, 53).

Посредовањем E1-E2 гликопротеина се вирусни омотач фузионише у ендозомску мембрану (54). ХЦВ РНК се ослобађа у ћелијску цитоплазму. Вирусни геном садржи NTR регион на сваком крају. Он има унутрашње рибозомско место уласка, internal ribosome entry site (IRES) које учествује у везивању за рибозоме и започињање транслацију. Синтетисани ХЦВ прекурсор полипротеина даље обрађују најмање четири различите пептидазе (сигнална пептидаза (SP), сигнална пептид пептидаза (SPP), NS2-NS3 и NS3-NS4A протеазе) (55).

Кључни ензим за репликацију РНК је NS5B, РНК-зависна полимераза ХЦВ, RNA dependent RNA polymerase (RdRp). Пошто се RdRp веже за свој шаблон, NS3 хеликаза одвија секундарне структуре шаблона РНК да би олакшала синтезу негативно наелектрисаног ланца РНК. Новосинтетисана antisense РНК служи као шаблон за синтезу бројних позитивно наелектрисаних РНК. Sense РНК служе геномској РНК у транслацији полипротеина. Још један важан вирусни фактор у формирању репликационог комплекса је NS5B, који индукује мембранску мрежу пореклом из ендоплазматског ретикулума, и садржи већи део неструктурних ХЦВ протеин укључујући NS5B (56).

Претходно синтетисане компоненте се уређују на начин како би могли да производе инфективне вирионе. Вирусно удруживање је вишеетапна процедура која укључује много вирусних компоненти и ћелијских фактора. Одвија се у ендоплазматском ретикулуму а липидне капљице учествују у формацији партикула (57).

1.7. Имунопатогенеза хепатитис Ц вирусне инфекције

Тежина болести варира од асимптоматске хроничне инфекције, са нормалним резултатима теста функције јетре и хистолошки скоро непромењене јетре, све до тешког хроничног хепатитиса са брзом прогресијом у цирозу и хепатоцелуларни карцином (58).

Успешна елиминација ХЦВ проистиче из индукције и одржавања снажног T-helper ћелијског и T-цитотоксичног ћелијског одговора на многобројне вирусне епитопе. Са друге стране, пацијенти који уђу у хроничну фазу ХЦВ инфекције, карактеришу се смањеним нивоом T-helper ћелијског и T-цитотоксичног ћелијског одговора. Немогућност одржавања поменутог ХЦВ-специфичног T-ћелијског одговора детерминисано је генетским фактором домаћина, нарочито комплексом главне хистокомпатибилности, the Major Histocompatibility Complex (MHC). Сматра се да ХЦВ не испољава директни цитопатски ефекат, и да је оштећење јетре у ХЦВ инфекцији последица имуноског одговора на против хепатоцита инфицираних ХЦВ. Вирус хепатитиса Ц такође, има способност умањивања имунске толеранције, те настанка аутоимуних феномена (59).

Квалитет ћелијског имунског одговора је одлучујући за елиминацију или перзистенцију ХЦВ инфекције. CD4⁺ Т ћелије, њихови цитокини са инфламаторним и регулаторним активностима изгледа имају важну улогу у имунопатогенези хроничне ХЦВ инфекције. CD4⁺ Т ћелијски одговор обухвата одговоре типа 1 и типа 2 Т helper ћелија (Th1 и Th2). Th1 ћелије секретују интерлеукин 2 (IL-2) и интерферон гама (IFN γ), који стимулишу развој имунског одговора домаћина, укључујући активацију цитотоксичних Т лимфоцита (CTL) и natural killer (NK) ћелија. Th2 ћелије производе IL-4 и IL-10, који доприносе производњу антитела и нисходну регулацију Th1 одговора. Дисбаланс између Th1 и Th2 одговора се импликује у прогресији ове болести и немогућности да се отклони инфекција. Пацијенти са акутном ХЦВ инфекцијом који постигну клиренс вируса и имају самоограничавајући акутни хепатитис развијају снажни Th1 одговор, али слаб Th2 одговор. Код пацијената који развију хроничну инфекцију, доминира Th2 одговор, а слабији је Th1 одговор (60). Ова запажања говоре у прилог ефектима Th1 цитокина као главних у заштити од ХЦВ инфекције, док доминантна производња Th2 цитокина може имати инхибиторни ефекат на имунски систем пацијента и тазвој перзистентне ХЦВ инфекције (58). Специфичне CD4⁺ Т-ћелије препознају вирусни антиген у контексту хуманог леукоцитног антигена, human leukocyte antigen (HLA) антигена II класе, док CD8⁺ Т лимфоцити препознају антиген у контексту HLA антигена I класе. Вирус специфичне CD8⁺ Т ћелије се сматрају главним антивирусним ефекторским ћелијама. Оне препознају вирусни пептид презентован на молекулима HLA класе I ћелија инфицираних вирусом. Антивирусни ефекти су посредовани било лизом инфицираних ћелија или нецитолитичким механизмима, где је вирусна репликација супримирана секрецијом цитокина, као што су IFN- γ или фактор туморске некрозе- α , Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α), без деструкције инфицираних ћелија. Код болесника са развијајућим хроничним хепатитисом α присутан је губитак функције праћен нумеричким падом ХЦВ специфичних CD8⁺ Т ћелија (6).

Присуство ХЦВ инфекције доказано је у мононуклеарним ћелијама периферне крви, моноцитима и лимфоцитима. Детекција негативно наелектрисане РНК у хематопоетским ћелијама указује на могуће екстрахепатичко место репликације ХЦВ, које такође може имати важну улогу у перзистенцији ХЦВ инфекције, вероватно изменом имунског одговора или фаворизовањем инфицирања хепатоцита (61). Ћелијски протеин CD81 који везује E2, експримиран је на површини ћелија

укљућујући лимфоците и хепатоците, и вероватно је рецептор за ХЦВ. Антитела која неутралишу ХЦВ инфекцију превенирају везивање Е2 за CD81. Продукција антитела је критична за неутрализацију слободних вирусних партикула и превенцију уласка вируса у ћелију домаћина. Неутралишућа антитела се производе чак и код високог степена хроничне еволуције. Најприхватљивије објашњење за неефикасност антитела против ХЦВ је брза појава мутација вируса на месту епитопа које би требало да препознају неутралишућа антитела, тако да до тог препознавања не долази (62). РНК-зависна полимераза вирусне РНК је изузетно склона грешци. Процењена учесталост спонтане замене нуклеотида је веома висока и износи 10^{-2} до 10^{-3} замена нуклеотида за годину дана. Код једне особе инфициране ХЦВ, популација вируса састоји се од хетерогене мешавине сродних вириона, који се један од другог разликују само у 1-9% база, (већ поменути квазиспецијеси). Из тог разлога долази до развоја мутаната који избегавају хуморални и ћелијски имунитет, варијабилности тропизма ћелије (лимфотропни спрам хепатотропном) и неуспеха вакцине, као и брзог развоја резистенције на лекове. Вирус хепатитиса Ц је нарочито генетски варијабилан у Е2 и NS1 региону генома, са два хиперваријабилна региона названа *hypervariable region* (HVR), HVR1 и HVR2. Различитости вируса и избегавању имунског одговора домаћина доприносе и изузетно брза стопа производња вируса код пацијената са хроничним хепатитисом Ц, реда 10^{10} до 10^{12} вириона на дан и кратак полуживот од 4-7 сати. (63, 64).

Вирус хепатитиса Ц није директно цитопатски. Основ патогенезе је резултат имунског препознавања и деструкције инфицираних хепатоцита. Перзистентна ХЦВ инфекција у јетри непрестано окида активни Т ћелијски одговор, главни механизам ледирања јетре. Т helper и цитотоксичне ћелије препознају структурне и неструктурне ХЦВ протеине, нарочито протеине сржи и NS4 протеине, и могу се пронаћи у ћелијском инфилтрату јетре. Доминантна производња Th1 цитокина има улогу у подстицању некроинфламаторних лезија (65). Овај континуирани некроинфламаторни процес није довољно ефикасан у одстрањивању инфекције. Ипак, некроинфламаторне лезије и прогресија фиброзе нису увек у корелацији, што значи да постоје могући вирусни кофактори (број копија вируса у крви, генотип вируса, ниво трансминазне активности, мада многе студије негирају постојање корелацију (66) као и кофактори домаћина (имунски статус, пол, старост, конзумација алкохола, лекова и дрога, коинфекције, генетски фактори) (38, 67).

1.8. Дијагноза хепатитис Ц вирусне инфекције

❖ Лабораторијски тестови у инфекцији вирусом хепатитиса Ц

- Биохемијска дијагностика

Анализе које указују на могуће вирусно оштећење јетре и чији су резултати корисни у праћену утврђене ХЦВ инфекције јесу: тестови интегритета хепатоцита, тестови билијарне секреције, тестови синтетских функција јетре (6).

- Серолошке анализе

Експозиција ХЦВ се утврђује тестирањем специфичних антитела (анти-ХЦВ антитела) коришћењем ензима или хемилумисцентног имуноесеја , chemiluminescence immunoassay (CIA) или enzyme immunoassay (EIA). Ипак, антитела не морају бити откривена у првим недељама иницијалне инфекције (период прозора), код пацијената који су имунокомпромитовани или код пацијената код којих до резолуције ХЦВ инфекције долази после дужег временског периода (68).

У последње време доступни су и комерцијални есеји, enzyme-linked immunosorbant assay (ELISA) за доказивање ХЦВ цоре антигена, који показују добру корелацију са ХЦВ РНК есејима (68). ХЦВ core антиген се детектује много раније него анти-ХЦВ антитело. Лимит детекције је 1.5 pg/mL што одговара нивоу ХЦВ РНК од 10000-50000 IU/mL. Сензитивност овог теста износи око 98%, а специфичност износи 99.8% (6).

- Молекуларни есеји (генотипизација вируса хепатитиса Ц)

Генотипизација ХЦВ је неопходна због примене адекватне терапије као и трајања лечења (68).

Квалитативно тестирање ХЦВ РНК се користи у одређивању акутне или хроничне инфекције и праћењу и процени одговора на антивирусну терапију. Тестирање ХЦВ РНК предлаже се код пацијената који су у великом ризику од инфекције, а који би могли да буду анти-ХЦВ негативни или неподобни за одређивање јер су у раној фази акутне ХЦВ инфекције или су имунокомпромитовани (као што су пацијенти на хемодијализи или са ХИВ инфекцијом). Есеји који се користе за

квалитативно ХЦВ РНК тестирање укључују “end-point” PCR и транскрипцијом-посредовану амплификацију, transcription mediated amplification (ТМА) са лимитима детекције од 50 и 10 IU/mL. Са увођењем сензитивнијих квантитативних real-time PCR есеја, квалитативни есеји више можда неће бити потребни. *Квантитативно* ХЦВ РНК тестирање подразумева одређивање концентрације вируса у крви, и може се изразити као број копија вируса у милилитру крви или интернационалних јединица у милилитру крви. Постоје real-time PCR есеји са широким динамичким опсегом квантификације, која је сензитивна, специфична, прецизна и репродуцибилна. Cobas Ampliprep/Cobas TaqMan је први есеј одобрен од Food and Drug Agency (FDA). Остали високосензитивни есеји, као што су VERSANT HCV RNA Квалитативни есеји (HCV Qual (ТМА), Siemens Healthcare Дијагностицс Diagnostics, Saints Denis, France) са детекционим лимитом од 9.6 IU/mL и TaqMan 2.0 есеј (Roche Diagnostics) са лимитима квантификације и детекције од 25 И 9.3 IU/mL; Abbott Real-Time ХЦВ есеј (Real Time HCV, Abbott Molecular, Des Plaines, IL, USA, са лимитом идентификације од 12 IU/mL) (68).

❖ Процена степена фиброзе јетре

Хистолошко напредовање у хепатитису Ц врши се: неинвазивним imaging техникама (тзв. преносна еластографија), неинвазивним маркерима из крви (однос аспартат аминотрансфераза (AST) и тромбоцита (Tr) AST/Tr (APRI индекс). FibroTest, FIBROSpect II, Hepascore, FibroMeter, FibroFast), и инвазивним техникама: реализацијом биопсије јетре и после које следи патохистолошка анализа добијеног узорка јетре (68).

Хистопатолошка дијагноза хроничног хепатитиса базирана је на одвојеној евалуацији порталних простора, мезенхимно/перенхимске границе, посебно перипорталне регије и паренхима ацинуса. Хистопатолошке промене у јетри, код болесника са хроничним вирусним хепатитисом су карактеристичне али не и патогномоничне. Овај налаз не омогућава апсолутно разликовање различитих етиолошких фактора који су довели до хроничног хепатитиса. Године 1994. усвојена је нова класификација која користи степеновање неколико параметара: некроинфламаторна активности (grading), степеновање фиброзе (staging), присуство или одсуство цирозе. Најпознатији је Knodellov скор, који прати четири параметра:

перипортна некроза са бридгинг некрозом (распон 0-10), интралобуларна дегенерација са фокалном некрозом (распон 0-4), портна инфламација (распон 0-4) и фиброза (распон 0-4), при чему се активност хроничног хепатитиса дели у четири категорије: неактивни хепатитис, минимални активни хепатитис, умерено активни хепатитис, јако активни хепатитис. За евалуацију хистолошке прогресије у ХХЦ ипак је најприхваћенија, слична Knodelloвој, METAVIR Study group класификација, мада се користи и Ishakov скоринг систем (Табела 4) (6). Систем скоровања METAVIR приступа процени хистолошких лезија у ХХЦ користећи два засебна скоровања, један за степен некроинфламаторне активности, Histology Activity Index (HAI) (А за активност од А0 до А3) и други за степен фиброзе (F за степене од F1 до F4). Степен активности, који представља одлику некрозе, није добар предиктор прогресије фиброзе. Само засебно посматрање фиброзе је најбољи маркер текуће фиброгенезе. Степен фиброзе и стадијум некроинфламације јесу у корелацији али код једне трећине пацијената то није случај. Клиничари не би требало да изједначе термин “значајна активност” са “озбиљна болест” (69).

Табела 4. Текућа хистолошка класификација хроничног хепатитиса према модификованом индексу хистолошке активности (Ishak) и Metavir скали

Некроинфламаторна активност (степен)	NAI	Metavir
Перипортална некроза, bridging некроза	0-4	0-3 , 0-1
Интралобуларна некроза, конфлуентна	0-6	
Интралобуларна некроза, фокална	0-4	0-2
Портална инфламација	0-4	0-3
УКУПНО	0-18	A0-A3
Фиброза (степен)		
Без	0	F0
Портална (мало)	1	F1
Портална (изражено)	2	F1
Bridging (мали број)	3	F2
Bridging (бројне)	4	F3
Некомплетна цироза	5	F4
Цироза	6	F4
УКУПНО	6	F4

1.9. Терапија хепатитис Ц вирусне инфекције

❖ Терапија акутног хепатитиса Ц

Терапија хепатитиса Ц у акутној фази резултирала је бољим процентом стабилног вирусолошког одговора (Sustained Virologic Response, SVR) него у хроничној фази. Циљ терапије акутног хепатитиса Ц је да се не уђе у хроничну фазу. У употреби су и конвенционални интерферони (IFN), као и пегловани интерферон алфа (PEG IFN α), и ординирају се током 24 недеље. Додатак рибавирин (RBV) не повећава проценат излечења. Код пацијената са генотипом 2 и 3, терапија може трајати и 24 недеље. Третман акутног хепатитиса Ц би требало да буде одложен за 8-16 недеља да би се допустила спонтана резолуција, нарочито код симптоматских пацијената,

изуевши пацијенте генотипа 1. Не препоручује се профилактичка употреба интерферона код задесног убода на иглу, због ниске инфективности вируса (68).

❖ Терапија хроничног хепатитиса Ц

Главни циљ лечења хроничног хепатитиса Ц јесте постићи трајно одрживу елиминацију вируса, у смислу његове недектетбилности (70), спречити или успорити фиброзу или цирозу јетре, спречити настанак хепатоцелуларног карцинома. Успех терапије зависи од генотипа вируса и карактеристика пацијента. Најчешћа терапијска опција јесте комбинована терапија PEG IFN и RBV. Код пацијената који имају вирусни генотип 2 или 3 примећен је бољи одговор на терапију, нарочито уколико су пре терапије имали ниже нивое ХЦВ РНК у крви (viral load), млађег узрасне доби и мањег степена фиброзе јетре. Уколико се недектетбилност ХЦВ РНК одржи и шест месеци након краја терапије, онда је постигнут SVR. Пре тога, важно је постићи рапидни или брзи вирусолошки одговор (rapid virologic response, RVR), а то је недектетбилност ХЦВ РНК четири недеље по започињању терапије. Негативизирање ХЦВ РНК или пад концентрације вируса у крви за минимум два логаритма, дванаест недеља по започињању терапије јесте рани вирусолошки одговор (early virologic response, EVR). Уколико се у крви вирусне копије не могу пронаћи ни после четири нити после дванаест недеља по започињању терапије, у питању је тзв. продужени рапидни вирусолошки одговор (extended early virologic response, eEVR) подразумева само негативизирање ХЦВ РНК дванаест недеља по започињању терапије. Парцијални рани вирусолошки одговор (partial early virologic response, pEVR) значи пад концентрације ХЦВ РНК у крви за два логаритма, без постизања eEVR, дванаест недеља по почетку лечења. Уколико се ХЦВ РНК не може детектовати на самом крају терапије, ради се о одговору на крају терапије (end of treatment response, ETR). Терапија избора је примена пегилованог интерферона алфа једном недељно у комбинацији са свакодневном применом RBV (Табела 5) (71, 72).

Табела 5. Комбинована антивирусна терапија хроничног хепатитиса Ц

Лек	Доза
PEG IFN α -2a + RBV	180 μ g једном недељно <75 kg: 1000 mg (генотип 1,4) \geq 75 kg: 1200 mg (генотип 1,4) 800 mg ili 12-15 mg/kg (генотип 2,3)
PEG IFN α -2b + RBV	1.5 μ g/kg једном недељно \leq 65 kg: 800 mg 66-80 kg: 1000 mg 81-105 kg: 1200 mg >105 kg: 1400 mg

Полиетилен гликол (PEG) може бити додат протеинима да побољша њихова фармаколошка својства. Раније препоручивана и спровођена администрација интерферона алфа, учесталости три пута недељно није била довољна за одржавање стабилних плазматских концентрација лека, што се негативно одражавало на вирусолошки одговор. Пегилација мења фармакокинетичка својства IFN α и омогућава администрацију лека учесталости једном недељно. Пегиловани интерферони садрже или линеарне PEG ланце мале молекуларне тежине, као PEG IFN α -2b (12 кД) или веће разгранате молекуле, као PEG IFN α -2a (40 кД). Постоје фармакокинетичке и фармакодинамске разлике између обичног и пегилваног интерферона, нарочито у смислу постизања веће стопе SVR код пегилваних форми (73).

Стандардно трајање терапије износи 24 недеље за пацијенте са ХЦВ генотипом 2 и 3, док 48 недеља траје терапија пацијената са ХЦВ генотипом 1 и 4. Трајање терапије ипак може да варира, тако да пацијентима са генотипом 2 и 3 може бити смањено на 12-16 недеља уколико имају viral load пре третмана мањи од 800 000 IU/mL и постигну RVR, сем ако имају узнапредовали степен фиброзе или цирозу јетре, као и дијабетес мелитус. Уколико постигну pEVR, без RVR, терапија се може продужити и до 48 недеља, а прекида се уколико не постигну pEVR. Лечење пацијената са генотипом 1 и 4 је теже, али такође може да варира. Уколико је вирал

лоад пре третмана мањи од 600 000 IU/mL крви, трајање терапије се може смањити на 24 недеље. Терапија се прекида уколико не постигну рЕVР. Провера се врши и у 24 недељи, па ако тада ХЦВ РНК буде детектебилна, терапија се продужава на 72 недеље (74). Новија истраживања показују да генетска варијација IL28В гена је удружена са спонтаним излечењем акутне ХЦВ инфекције као и са одговором на терапију PEG INF и рибавирином, тако да се овај генетички маркер у будућности може користити као предиктивни фактор успеха терапије (75, 76).

Иако се тренутно најчешће ординирана терапијска комбинација (PEG IFN α и рибавирин) показала успешном, ефикасност ипак није крајње задовољавајућа, нарочито код пацијената генотипа 1, са генетском варијабилношћу IL28В гена. У употреби су и протеазни инхибитори (телапревир и боцепревир, код терапијских наивних пацијената генотипа 1, релапсера и нон респондера на стандардну терапију) који представљају директно делујуће агенсе (делују против NS3/4А серинске протеазе) (68). Од недавно се спроводи и терапија фиксном комбинацијом ледипасвира (NS5А инхибитор) и софосбувира (инхибитор нуклеотидне полимеразе), превасходно код пацијената инфицираних ХЦВ генотипом 1 који нису постигли SVR после третмана PEG INF и рибавирином са или без протеазних инхибитора (77). Најновији терапијски протоколи из 2015. године Европског удружења за проучавање јетре за болеснике са генотипом 4 без цирозе препоручују тројну терапију омбитасвиром, паритапревиром (NS34А инхибитор) и ритонавиром у једној таблети уз рибавирин током 12 недеља, а за болеснике са генотипом 4 са компензованом цирозом током 24 недеље. У употреби су такође симепревир (NS34А инхибитор), даклтасвир (NS35А инхибитор) и комбинација дасабувира (NS5В инхибитор) са омбитасвиром (NS5А инхибитор) , паритапревиром и ритонавиром (78).

- **Механизам дејства интерферона и рибавирина**

Док је појединачно за интерферон познато да има снажно антивирусно, имуномодуаторно и антиинфламаторно дејство на ХЦВ, механизам дејства рибавирина у садејству са интерфероном није довољно јасан (79).

Интерферон-алфа своју моћну антивирусну активност дугује пре свега способности да индукује интерфероном стимулисане гене, који кодирају протеин који

инхибирају различите стадијуме репликације вируса. Интерферон-алфа такође има и имуномодулаторно дејство, интерреагујући и у урођеном као и у стеченом имунитету домаћина. Интерферон алфа покреће диференцијацију T helper ћелија на рачун Th2 ћелија, доводећи до повећане продукције IL2 и IFN- γ . Са друге стране, инхибирајући синтезу различитих цитокина, као што су TNF и IL-1, показује антиинфламаторни ефекат (79).

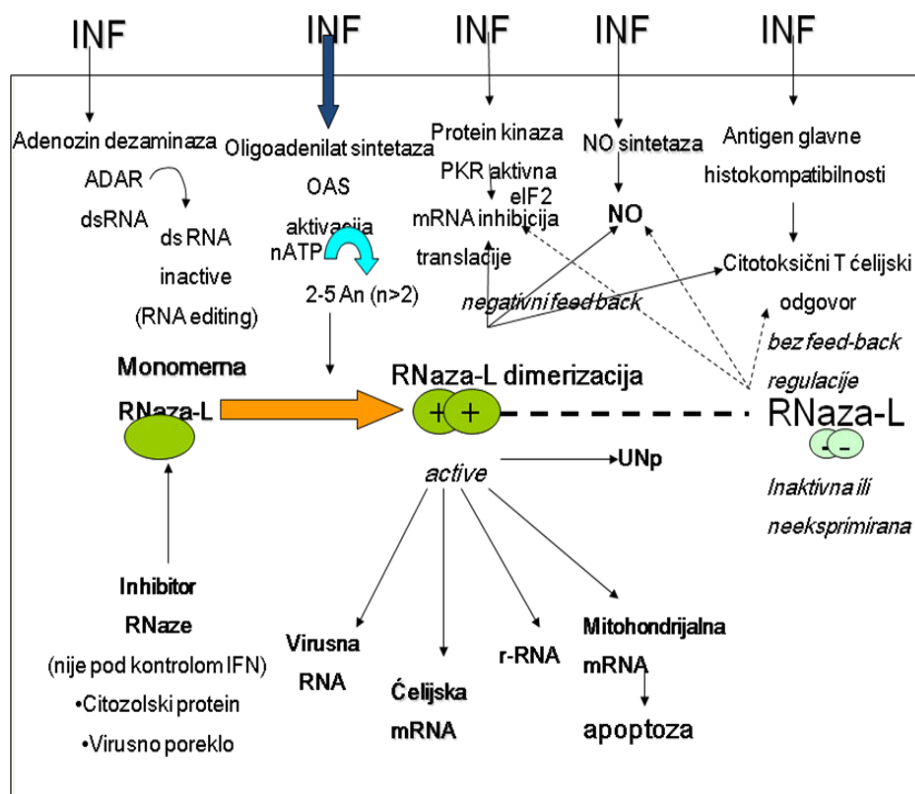
Интерферон алфа индукује урођени и стечени антивирусни имунски одговор. Главни механизам сигнализације који користи IFN- α јесу Јанус киназе/преносиоци сигнала и активатори транскрипције, Janus kinase/signal transducers and activators of transcription (JAK/STAT) путева. Два цитоплазматска протеина са активношћу тирозин киназе 2 (Тук 2) бивају активирани димеризацијом датих рецептора. Активирани JAK1 и Tyk2 фосфорилишу STAT1 и STAT2, који се вежу за протеин p48, чинећи интерфероном стимулирани генски фактор 3 (ISFG3), који се транслоцира у нуклеус и веже са интерфероном-стимулисаним регулаторним елементом. На тај начин се индукују антивирусни протеини као што су 2'5'-олигоаденилат синтетаза (2'5'OAS), протеин киназа PNA и Mx протеин. Један од главних антивирусних путева интерферона укључује активацију убиквитарне ћелијске ендорибонуклеазе L (RNaze L), некад звана 2-5A зависна RNаза. Систем 2',5'-олигоаденилат синтетаза/RNаза L је урођени имунски одговор на патоген-удружену молекулску шему који индукује деградацију вирусне и ћелијске РНК и тако блокира вирусну инфекцију. Патоген-удружена молекулска шема је двоструко завијена РНК (dsRNA), коју производе и ДНК и РНК вируси. Она активира рецептор за препознавање патогена 2-5A синтетазу тј. OAS што резултује продукцијом 2-5A из аденозин три фосфата АТФ. Сигнализација интерфероном индукује транскрипцију гена за OAS преко интерфероном стимулираних елемената одговора у промоторима. Услед тога, ћелија изложена интерферону током вирусне инфекције има повишене нивое OAS који доприносе интерфероном индукованом антивирусном стању. Једина функција 2-5A је активација RNазе L те се он сматра јединственим лигандом за RNазу L, који се везује за њу и каталитички од инактивних мономера RNазе L формира активирани димер са потентном RN-азом активношћу. Убрзо затим, 2-5A бива деградирана фосфодиестеразом и фосфатазом. Антивирусни ефекат RNазе L је последица комбинације механизма као ефекат разлагања у различитим РНК супстратима и зависи од вируса и типа ћелије. Главни механизми којима RNаза L супримира вирусну

инфекцију јесу: разградња вирусне геномске једно-завијене РНК (ssRNA) и инхибиција репликације, разградња ћелијске иРНК која инхибише синтезу протеина, разградња ћелијске иРНК и рибозомске РНК потребних за репликацију вируса, амплификација производње IFN- α/β помоћу малих РНК насталих из RNaze L, елиминација вирусом инфицираних ћелија путем апоптозе. Генотип 1 ХЦВ је релативно резистентан на интерферон у поређењу са генотиповима 2 и 3. Информациона РНК ХЦВ може да активира OAS да произведе 2-5A, чиме се РНК помоћу RNaze L деградира на фрагменте од по 200 до 500 база. Сензитивност на интерферон корелира са пријемчивошћу иРНК да је разгради RNaza L. Активност RNaze L током ХЦВ инфекције узрокује селекцију вирусних сојева смањене учесталости UU и UA динуклеотида. Према томе, постоји мање места за разградњу код генотипова резистентних на интерферон. Тихе мутације се акумулирају на овим местима током терапије IFN код пацијената инфицираних генотипом ХЦВ 1b. Активација RNaze L посредована ХЦВ води апоптози и елиминацији ћелија инфицираних ХЦВ-ом (Слика 3).

Апсорпција IFN- α (2a или 2b) је висока, без обзира да ли је дат поткожно или интрамускуларно. Пик концентрације постиже се 3-12 h после администрације. Метаболизам и елиминација IFN- α се обављају, са полуживотом од 3 до 8 сати. Додавањем полиетилен гликола рекомбинантном IFN- α постиже се смањење реналног клиренса, мењајући метаболизам и повећавајући полуживот молекула интерферона, притом задржавајући своје имуностимулаторне карактеристике. Постоје разлике између два пегирована интерферона. Пегировани IFN- α 2b се брже апсорбује (са полувременом апсорпције од 4.6 h), велику запреминску концентрацију дистрибуције у телу (приближно 0.99 L/kg) и средње време елиминације од 40 h. Ипак, PEG IFN α -2a се спорије апсорбује (полуживот апсорпције од 50 h), његова дистрибуција је ограничена на добро васкуларизоване органе са добром перфузијом, као што је јетра, и остаје детектабилан у серуму једну недељу (полувреме елиминације од приближно 65 h) (80).

Рибавирин је синтетички нуклеозид структурално сличан гуанозину. Рибавирин улази у еукариотске ћелије брзо и пошто подлегне интраћелијској фосфорилацији, показује виростатску активност према широком спектру ДНК (дерибонуклеинска киселина (ДНК)) и РНК вируса. Ипак, тачан механизам дејства рибавирина још није потпуно јасан. Сматра се да то може бити: директна инхибиција репликације ХЦВ,

инхибиција ензима инозин монофосфат дехидрогеназе домаћина, индукција мутагенезе вирусне РНК, имуномодулација индукцијом T helper 1 типа имунског одговора. Рибавирин се брзо апсорбује (полуживот од приближно 2 h) и добро се дистрибуира у организму после оралног уноса, метаболише се углавном путем бубрега (80). У моделу стабилне културе ХЦВ ћелија, рибавирин инхибира аутономну репликацију ХЦВ РНК са ефективном концентрацијом од 11-21 мсМ. У истом моделу, PEG-IFN- α 2a такође инхибира репликацију ХЦВ РНК, са вредности од 0.1-3 ng/mmL. Комбинација ова два лека заједно је ефективнија у инхибицији ХЦВ РНК репликације него сваки засебно. Рибавирин повећава индукцију интерфероном-стимулисаних гена (ISGs) код пацијената лечених од ХХЦ. Слично интерферону алфа, рибавирин значајно инхибира Japanese fulminant hepatitis 1 (JFH-1) инфекцију human hepatoma (Huh) 7.5.1 ћелија на дозно зависан начин. Када је терапија комбинована, индукција ISGs је синергистичка (81).



Слика 3. Систем олигоаденилат синтетаза/рибонуклеаза L у урођеном имунитету против вирусне инфекције. Шема по проф.др Гордани Коџић, са предавања о интерферону на Докторским академским студијама Медицинског факултета у Нишу.

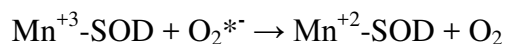
1. 10. Оксидативни стрес у у хроничној хепатитис Ц вирусној инфекцији

1.10.1. Оксидативни стрес

Оксидативни стрес има улогу у настанку широког спектра патолошких процеса, што је доказано у многим клиничким испитивањима. Он је резултат производње слободних радикала, високо реактивних молекула који садрже један или више неупарених електрона, који превазилазе ендогени антиоксидативни, одбрамбени капацитет организма. Слободни радикали могу бити реактивне врсте кисеоника (RVK) и реактивне врсте азота (RVN). Термин RVK се односи на неколико продуката који настају парцијалном редукцијом кисеоника, укључујући слободне радикале кисеоника (супероксид, хидроксил, пероксил и алкоксил) и неке нерадикалске деривате кисеоника, као што су хидроген пероксид, синглет кисеоник и хипохлорна киселина. Реактивне врсте кисеоника даље могу бити конвертоване у RVN, као што су азот моноксид, пероксинитрит, азот диоксид (82).

Мрежа специфичних неензимских и ензимских антиоксиданата може се супротставити настанку митохондријалних RVK. Неензимски антиоксидантни системи су друга линија одбране против оштећења насталог дејством слободних радикала. Неензимски антиоксиданти синергистички дејствују са ензимским антиоксидантима. Ензимски антиоксидантни системи у митохондријама укључују: супероксид дизмутазу (SOD), глутатион пероксидазу (GPx), глутатион редуктазу (GR), каталазу (CAT), глутаредоксин, тиоредоксин, тиоредоксин редуктазу (TrxR) и пероксиредоксин (PRx). Смањена активност митохондријалне SOD и GPx удружена је са митохондријалним оксидативним стресом (82).

Манган-зависна SOD је лоцирана у митохондријалном матриксу. То је примарни антиоксидант, кодиран из једра, који модулира редокс стања. Она убрзава превођење кисеоничног радикала у водоник пероксид. Она инхибира липидну пероксидацију мембране и митохондријално оштећење, тако што уклони кисеонични радикал, па се може сматрати антиинфламаторним агенсом. Постоји бакар - и цинк-зависна SOD, која се налази у међумембранском простору митохондрије, нуклеусу, лизозомима и пероксизомима (82).





Глутатион пероксидаза је ензим који садржи селен и цистеин, и има шест изоформи (GPx 1-6). Ензим GPx-1 се налази у цитоплазми и митохондријалном матриксу, и метаболише водоник пероксид у кисеоник и воду. Ензим GPx-4 налази се на унутрашњој мембрани митохондрије и редукује липидне хидропероксиде, алкил пероксиде и хидропероксиде масних киселина те штити митохондрије од оксидативног оштећења и прекида производње аденозин три фосфата (82).

Каталаза подстиче конверзију водоник пероксида у воду. Свака од њене четири субјединице садржи хем групу са Fe+3. Мембрана митохондрије је непропустљива за каталазу. Она се првенствено налази у пероксизомима, а што се тиче митохондрија, присутна је само у срчаном мишићу (82).

Глутатион (GSH), коензим Q (CoQ), липоична киселина, витамини Ц и Е су неензимске компоненте антиоксидативног одбрамбеног система у митохондријама (82).

1.10.2. Хепатитис Ц и оксидативни стрес

Механизми којима ХЦВ узрокује ћелијско оштећење још нису довољно проучени, поред имунског оштећења јетре, директног цитотоксичног оштећења посредованог различитим вирусним продуктима, и оксидативни стрес се доводи у везу са патогенозом ХХЦ (83). Оксидативно оштећење карактерише се умањеним нивоима GSH, и усходном регулацијом антиоксидативних ензима као што су CAT, GPx и SOD. Сматра се да третман пегилованим интерфероном и рибавирином може бити одговоран за успостављање антиоксидативног одговора код пацијената са ХХЦ (85).

Неки од ХЦВ протеина, нпр. NS5A, подстичу неправилну усходну регулацију циклооксигеназе-2 (COX-2) која доприноси хроничној инфламацији и фибрози продукцијом различитих простагландина. Супресија нивоа COX-2 протеина удружена је са супресијом репликације ХЦВ (86). Хронична ХЦВ инфекција карактерише се активацијом инфламаторних ћелија у јетри, перзистентним инфламаторним стањем које води оштећењу и фиброзирању јетре (87). Поред локалне инфламације у јетри, постоји и конкомитантна системска инфламација, која се карактерише повишеним

нивоима проинфламаторних цитокина у серуму, активацијом оксидативног стреса и активацијом моноцита периферне крви. У ХХЦ присутни су и хепатички и системски оксидативни стрес, директно повезани са хроничном инфламацијом, као резултат губитка равнотеже између RVK и антиоксидативне одбране. Оксидативни стрес у ХХЦ доводи до оштећења хепатоцита, ендотелних ћелија, Куферових ћелија и хепатичких стелатних ћелија преко инфламације, исхемије, апоптозе, некрозе и регенерације (88). Повишени нивои RVK доводе до фиброгенезе путем пролиферације стелатних ћелија и синтезе Transforming Growth Factor β (TGF- β) и колагена. Оштећењем ДНА хепатоцита, хепатоцити бивају подложни променама изазваним мутацијама (89). У будућности, очекује се да у клиничку праксу уђу нове терапијске стратегије које циљају молекуле укључене у оксидативни стрес изазван ХЦВ. Велики број проинфламаторних цитокина се активира у ХХЦ, акценат се нарочито баца на IL-1 β . Овај интерлеукин даље индукује производњу неколико различитих проинфламаторних цитокина и хемокина, као то су IL-6, IL-8, као и инфламаторне протеине макрофага. Протеини ХЦВ (NS3, NS4, NS5) подстичу Куферове ћелије да производе инфламаторне цитокине као што је TNF- α . Сматра се да би лековима који блокирају IL-1 β , могла да се контролише инфламација (90). Откривено је такође, да ХЦВ core протеин и NS3 протеин активирају toll-like рецепторе (TLRs), молекуле укључене у продукцију проинфламаторних цитокина у ћелијама урођеног имунитета (91).

Оксидативни стрес доприноси липидној акумулацији у јетри (стеатози), те игра важну улогу у смислу некроинфламације и некрозе јетриних ћелија, тако што покреће липидну пероксидацију. Стеатоза и липидна пероксидација активирају стелатне ћелије, које даље покрећу фиброгенезу и последичну цирозу јетре (92).

Сматра се да оксидативни стрес има кључну улогу у патолошким поремећајима јетре индукованим ХЦВ. Инфекција вирусом хепатитиса Ц се карактерише повећаним нивоом маркера оксидативног стреса. Код пацијената оболелих од хепатитиса Ц могу се наћи повишени нивои производа липидне пероксидације, и то у серуму, моноклеарним ћелијама периферне крви као и узорцима јетре. Повишени су нивои 4-хидроксинонелала и 8-хидроксигванозина, маркера оксидативног оштећења ДНК. Значајно су редуковани и нивои јетриног, плазматског и лимфоцитног глутатиона, нарочито код пацијената са генотипом 1b ХЦВ. Повишен је и ниво оксидованог GSH, (GSSG), што указује на повишени GSH turnover (93). Повећање оксидативног стреса у ХЦВ инфекцији може се објаснити хроничном инфламацијом. Континуирана настајање

RVK и RVN објашњава се активношћу nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-(NAD(P)H) оксидазе (Nox 2) Куферових ћелија и полиморфонуклеарних ћелија јетре. Протеин NS3 активира NAD(P)H оксидазу и Nox 2 протеин фагоцита и тако повећава генерацију RVK. Пошто је јетра извор GSH, којим обезбеђује сва ткива, ХЦВ индиректно, оштећењем јетре, индукује системски оксидативни стрес. Иако су и ХЦВ и ХБВ узрочници хепатитиса, ХЦВ је много потентнији у изазивању оксидативног стреса, што указује на јединствени механизам оксидативног стреса у хепатитису Ц, што се закључује значајно већим измереним нивоима маркера оксидативног стреса у ХЦВ инфекцији него у ХБВ и хепатитис А вирус (ХАВ) инфекцији, и склоношћу да у већем проценту развије хроничну форму болести у односу на ХБВ инфекцију, или ХАВ инфекцију која и нема хроничну форму. Такође, у узорцима јетриног ткива оболелих од ХЦВ инфекције, могу се наћи депозити гвожђа у вишку, који изазивају стварање слободних радикала (94).

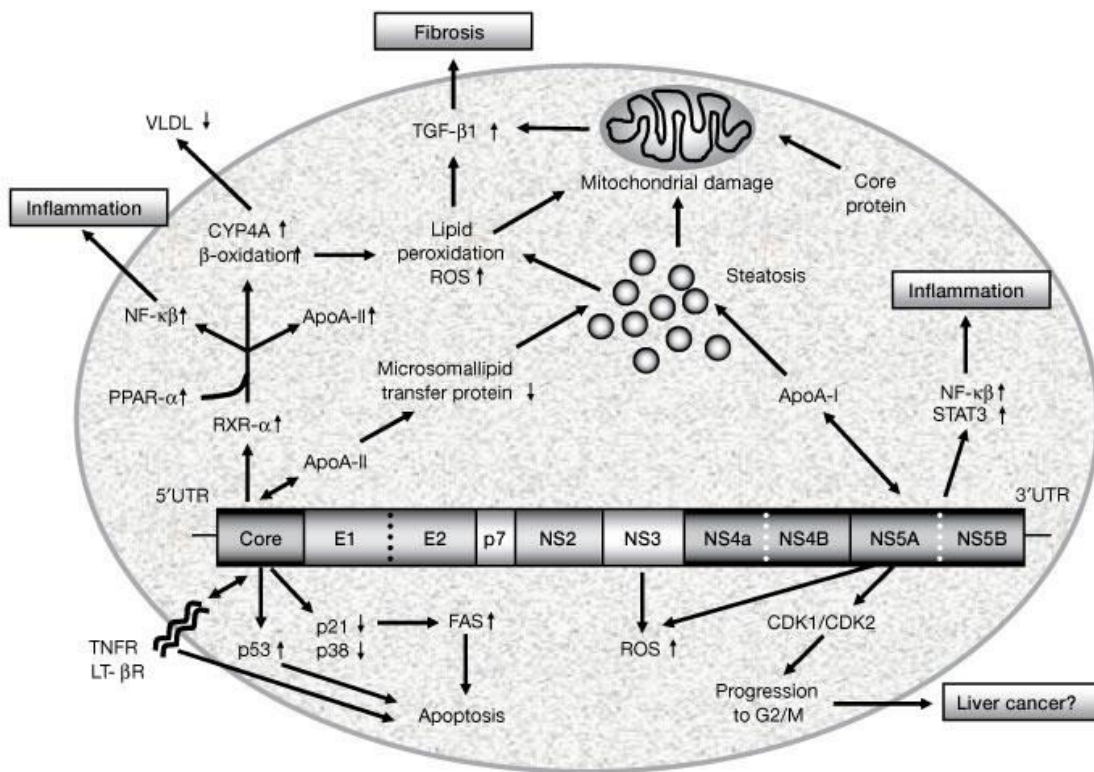
Вирус хепатитиса Ц директно индукује оксидативни стрес у самим хепатоцитима. Експресија ХЦВ *core* гена је удружена са повећањем RVK, а смањењем интрацелуларног и/или митохондријалног садржаја GSH (95). Експресија поменутог гена ствара прооксидативну средину, која индукује антиоксидативне одбрамбене механизме. Такође, његова локализација на спољашњој мембрани митохондрије доводи до њене дисфункције и омогућавања акумулације јона калцијума. Повећање калцијума инхибише транспорт електрона и покреће производњу RVK (96).

Поред *core* протеина, NS5A протеин ХЦВ такође мења оксидативни статус домаћина. Он индукује акумулацију погрешно синтетисаних протеина покретањем оксидативног стреса у ендоплазматском ретикулуму (ER), са последичним ослобађањем јона калцијума из ER, праћеним митохондријалним преузимањем калцијума и стварањем RVK у митохондријама (97).

Оксидативни стрес преко NS5A протеина активира Nf-κB, који модулира ћелијски раст и апоптозу и активира циклооксигеназу 2 (COX-2), и *Stat3* гене. Активација COX-2, која може бити инхибирана антиоксидантима и хелаторима јона калцијума, повећава синтезу простагландина E2 (PGE2), који инхибира апоптозу туморских ћелија, подстиче њихову пролиферацију, покреће њихову пролиферацију као и метастазу, стимулише ангиогенезу и води даљој акумулацији RVK (98).

По неким ауторима, током репликације ХЦВ, повећавају се количине MnSOD, хем оксигеназе 1 (HO-1), CAT и GSH, као адаптивни одговор неструктурних протеина ХЦВ. Протеин NS5A индукује MnSOD, што је посредовано активацијом AP1 транскрипционог фактора од стране p38 митоген активисаном протеин киназом, mitogen activated protein kinase (MAPK) и JNK сигналних путева (97, 99). За разлику од њих, има аутора чија истраживања показују да се током репликације не мења интрацелуларни статус GSH, и да ниво RVK није довољно велики да започне адаптивно повећање GSH (100).

Ћелијска редокс средина је регулисана антиоксидантима и редуктантима као и антиоксидативним ензимима који уклањају оксиданте или директно или изменом њиховог хемијског састава. Током оксидативног стреса, многи од антиоксидативних ензима су усходно регулисани као одговор на стрес. За разлику од NS5A протеина, цоре протеин тежи да смањи садржај GSH. Упркос повишеном нивоу RVK у ћелијама које експримирају core протеин, нема компензаторног повећања HO-1 нити каталазе. Ова разлика у ефектима core протеина и NS5A протеина није јасна, кад оба учествују у регулисању сигналних путева (MAPK нпр.) Активност GPx може такође бити смањена у плазми пацијената са ХХЦ. У том случају се ХЦВ негативно одражава на Nrf2/maf (NF-E2 related factor (Nrf2), *musculoaponeurotic fibrosarcoma* (maf)) транскрипционе факторе и протеин активатор 1, activator protein1 (AP-1). Ипак, има клиничких студија које указују на повећану експресију антиоксидативних гена. У ефекте оксидативног стреса у патогенези ХЦВ спадају и физичко оштећење ћелија као и дејство на сигналне путеве. Оксидативни стрес доводи до пролиферације хепатичних стелатних ћелија, TGF- β и синтезу колагена, што највероватније води развоју фиброзе јетре. Оксидативно оштећење ДНК повећава хромозомске аберације и трансформацију ћелије као и прелаз у хронични облик хепатитиса Ц. Повећани нивои RVK покрећу развој хепатоцелуларног карцинома, изазивајући оштећење ДНК и мутацију ћелијских гена (Слика 4) (94).



Слика 4. Оксидативни стрес у настанку и прогресији хроничног хепатитиса Ц.

Позајмљено из: Poynard T, Afdhal NH. Perspectives on fibrosis progression in hepatitis C: an à la carte approach to risk factors and staging of fibrosis. *Antiviral Therapy* 2010; 15: 281-91.

Fibrosis-фиброза, inflammation-инфламација, liver cancer-карцином јетре, mitochondrial damage-митохондријално оштећење, core protein-протеин сржи, core протеин, steatosis-стеатоза, lipid peroxidation-липидна пероксидација, ROS-реактивне врсте кисеоника, β-oxidation-β-оксидација, microsomal lipid transfer protein-протеин микрозомалног липидног трансфера, progression to G2M-прогресија у G2M.

Постоје истраживања која не само да су доказала да ХЦВ представља претњу за антиоксидативне системе организма и снижавање активности антиоксидативних ензима, већ су ту чињеницу искористили и даље утврдили да је MnSOD један од првих терапијских кандидата за реверзију процеса фиброзе. Сматра се да ту улогу обавља захваљујући активацији NFκB (101, 102)

Највише је резултата истраживања повишених вредности реактивних врста кисеоника у ћелијама у којима се репликује вирус хепатитиса Ц, јетрином ткиву и лимфоцитима пацијената са ХЦВ инфекцијом (102).

Испитивањем оксидативног стреса на моделу шизофреније, доказано је да је могуће мерење периферних биомаркера тј. оних који су присутни изван примарног дешавања болести. Антиоксидативни ензими SOD, GPx и CAT блокирају настанак реактивних врста кисеоника. У оксидативном оштећењу мозга постоји повећана липидна пероксидација продуката у ликвору и плазми, као и редукција мембранских полинезасићених масних киселина, polyunsaturated fatty acids (PUFA) у мозгу и мембрани еритроцита. Као одговор на повећање реактивних врста кисеоника, концентрација антиоксидативних ензима расте као компензаторни механизам. Промене у активности ензима у мозгу утиче на активност ензима у плазми. Еритроцити се често користе у евалуацији оксидативног стреса у шизофренији. Абнормалности настале у еритроцитима рефлексно су истих абнормалности у неуронима. Због своје доступности, мембрана еритроцита јесте тзв. прозор у ЦНС. Промена на мембрани еритроцита је такође присутна и у мозгу пацијената са шизофренијом (103). И на примеру осталих болести у којима је присутан оксидативни стрес је показано да мерење нивоа антиоксидативних ензима еритроцита оправдано, те да је промена њихове активности индиректни показатељ нарушене антиоксидативне баријере на примарном месту патогенезе, јер повећана продукција RVK утиче на оксидативно/антиоксидативни систем еритроцита (104).

2. Циљеви истраживања

Имајући у виду већ описане патогенетске механизме хроничног хепатитис Ц као и оксидативног стреса, конкретни циљеви истраживања јесу:

1. Одредити базични (пре терапије) антиоксидативни статус, тј, базичне активности антиоксидативних ензима, САТ, SOD, GPx, код пацијената са ХХЦ.

2. Одредити активности горе поменутих антиоксидативних ензима код истих пацијената након завршетка терапије.

3. Упоредити вредности испитиваних антиоксидативних ензима код пацијената са ХХЦ пре и после терапије у односу на:

а) целокупну испитивану групу пацијената са ХХЦ

б) пацијенте подељене по групама у односу на ХЦВ генотипове (група пацијената ХЦВ генотипа 1 и 4, група пацијената ХЦВ генотипа 2 и 3)

в) пацијенте подељене по групама у односу на степен фиброзе јетре (група степена фиброзе 1, група степена фиброзе 2, група степена фиброзе 3, група степена фиброзе 4)

г) viral loada (број копија вируса у крви) пацијената пре третмана

д) групе пацијената у односу на постигнут односно непостигнут SVR.

4. Одредити предиктивну вредност антиоксидативних ензима.

3. Научна хипотеза

Уочавајући научни проблем прегледом литературе и анализом супротних резултата и њихових тумачења, предложене су следеће хипотезе:

H0. Код пацијената са ХХЦ, пре третмана пегилованим интерфероном алфа-2а и рибавирином, нема разлике у активности антиоксидативних ензима, SOD, CAT, GPx, у односу на здраве добровољце, нити постоји промена активности по завршетку терапије (узимајући у обзир све пацијенте са ХХЦ, као и посебне категорије, у односу на генотип вируса, степен фиброзе, базични вирал лоад, постизање SVR).

H1. Код пацијената са ХХЦ, пре третмана пегилованим интерфероном алфа-2а и рибавирином, за разлику од здравих добровољаца су снижене активности антиоксидативних ензима, SOD, CAT, GPx.

H2. После завршетка терапије долази до повишења активности SOD, CAT, GPx у односу на претерапијске нивое код пацијената који су постигли SVR.

H3. Пацијенти генотипа 1 и 4 имају ниже нивое поменутих антиоксидантних ензима у односу на пацијенте генотипа 2 и 3, пре и после терапије.

H4. Пацијенти вишег степена фиброзе имају ниже нивое антиоксиданаса у односу на пацијенте нижег степена фиброзе, пре и после терапије.

H5. Пошто терапија вероватно утиче на успостављање оксидативно-антиоксидативног баланса, пацијенти са постигнутим SVR повећаће ниво активности антиоксидативних ензима.

H6. Ниво базичног viral loada негативно корелира са повећањем активности антиоксидативних ензима после терапије.

H7. Постоји међусобна веза између активности SOD, CAT, GPx која би указала на један патогенетски принцип у настајању ХХЦ.

Н8. Поменути антиоксидативни ензими имају предиктивну вредност у процени постизања SVR.

4. Испитаници, материјал и методе

4.1. Испитаници, критеријуми за укључење у студију и материјал

Студија је била проспективна. У истраживање је иницијално било укључено 60 испитаника са хроничним хепатитисом Ц и 56 здравих испитаника. Селекција испитаника који су укључени у студију извршена је на основу критеријума за увођење на стандардну терапију пегинтефероном α -2а и рибавирином и додатних критеријума у складу са актуелним истраживањем. Критеријуми за увођење поменуте терапије су били: 18-65 година старости, позитиван квалитативни и квантитативни ХЦВ РНА тест (одређивање вирал лоада), биопсијом јетре потврђен ХХЦ као и степен фиброзе минимум 1, ниво хемоглобина већи од 12 g/dL. По пристизању резултата патохистолошке анализе биоптата јетре, седморо пацијената није имало започет процес фиброзе у јетри, како по тадашњим критеријумима нису могли да започну терапију - њихови резултати нису статистички обрађивани. У студију нису били укључени испитаници који су преосетљиви на PEG IFN и RBV, труднице и дојиље, пацијенти са декомпензованом цирозом и карциномом јетре, значајним обољењима кардиоваскуларног система и штитне жлезде, аутоимунским болестима и психозама, нерегулисаним дијабетесом и активним абзусом алкохола и дроге, пацијенти са вредношћу тромбоцита испод $100 \times 10^9/L$, билирубина изнад $35 \mu\text{mol/L}$, креатинина изнад $133 \mu\text{mol/L}$. У додатне, шире критеријуме за укључење дизајниране у складу са тематиком истраживања, спадало је одсуство свих акутних или хроничних, медицинских стања која би додатно реметила оксидативно-антиоксидативни статус поред ХЦВ инфекције (тако да испитивањем нису обухваћени испитаници са ХХЦ на дијализи, са хемофилијом, бивши опијатски зависници на фармакотерапији одвикавања, као ни витамински суплементирани пацијенти). Контролну групу су чинили здрави добровољци оба пола и истих година као и испитивани болесници, који такође, нису витамински суплементирани у догледном временском периоду. Њима је у циљу истраживања узимана само крв ради одређивања активности антиоксидативних ензима. Од свих пацијената и добровољаца тражио се писмени пристанак ради учешћа у истраживању и спровођења терапије.

Свим потенцијалним кандидатима за терапију, узимана је крв ради квалитативне, квантитативне (viral load) детерминације ХЦВ РНК (PCR) као и генотипизације, на основу претходно серолошки доказане ХЦВ позитивности (ELISA). Пацијентима са доказаним хроничним хепатитисом Ц (присуство ХЦВ РНК у крви) урађена је биопсија јетре, ради патохистолошке евалуације прогресије болести (одређивање степена фиброзе).

Пацијентима који су се квалификовали за терапију је на основу одређеног генотипа спроведен и различит терапијски режим у погледу трајања лечења. Крв за анализу узимана је према стандардизованим смерницама овог терапијског режима. Пре почетка терапије пацијентима је узимана крв ради одређивања базичних активности антиоксидативних ензима, као и осталих параметара рутинских биохемијских и хематолошких анализа у оквиру стандардних процедура лечења. Пацијенти са генотипом 2 и 3 примали су PEG IFN α -2а субкутаном инјекцијом једном недељно, а RBV пер ос свакодневно, у току 24 недеље терапије. Пацијенти са генотипом 1 и 4 примали су PEG IFN α -2а субкутаном инјекцијом једном недељно, а RBV пер ос, свакодневно, у току 48 недеља терапије. Дозирање терапије било је исто код обе групе генотипова, и то пегинтерефрона α -2а у дози од 180 μ г недељно, рибавирин 1000-1200 мг дневно. Смањење дозе лекова било је планирано и дозвољено у случају пада вредности хемоглобина на испод 100 g/L, полиморфонуклеара испод $0.75 \times 10^9/L$, тромбоцита испод $50 \times 10^9/L$. Према смерницама за терапију и евалуацију лечења PEG IFN α -2а и RBV, узимана је крв ради анализе 24 недеље по завршетку терапије, у циљу утврђивања постизања SVR. У исто време узимана је и крв ради одређивања активности антиоксидативних ензима.

4.2. Методе

Основни општи подаци о испитаницима попуњени су на основу анамнезе. Стандардне биохемијске и хематолошке анализе крви (комплетна крвна слика, параметри акутног запаљења- седиментација еритроцита и високо сензитивни Ц-реактивни протеин, high sensitivity C-reactive protein (hsCRP), параметри теста функције јетре, тестови бубрежне функције, алфа фетопротеин) као и одређивање активности антиоксидативних ензима – SOD, CAT и GPx спроведено је у Центру за медицинску биохемију Клиничког центра у Нишу. Одређивање параметара коагулационог статуса

вршено је у лабораторији за хемостазу, Клинике за хематологију и клиничку имунологију, Клиничког центра у Нишу. Серолошко утврђивање ХЦВ инфекције извршено је у лабораторији Клинике за заразне болести Клиничког центра у Нишу. Квалитативно и квантитативно одређивање ХЦВ РНК спроведено је у референтној лабораторији Института инфективне и тропске болести у Београду. Перкутана слепа аспирациона биопсија јетре реализована је на Клиници за инфективне болести Клиничког центра у Нишу, а патохистолошка евалуација узорка јетре добијеног биопсијом рађена је у Институту за патологију Клиничког центра у Нишу.

4.2.1. Одређивање активности SOD, CAT и GPx

Одређивање активности антиоксидативних ензима вршено је у хемолизату еритроцита који је начињен из суспензије еритроцита хепаринизоване крви додатком хладне редестиловане воде и чуван на -20°C до одређивања активности ензима.

Активност CAT одређивана је кинетичком методом по Беутлеру (1982) (106). Метода се заснива на разградњи водоник пероксида која се прати падом апсорбанце на 230 нм у сто пута разблаженом примарном хемолизату еритроцита. Активност ензима се изражава у јединицама на грам хемоглобина $\times 10^4$ (U/gHb $\times 10^4$). Мерење активности каталазе вршено је на спектрофотометру DU 650 фирме Beckman (Beckman, USA).

Активност SOD одређивана је комерцијалним тестом Ransod, фирме Randox (Randox Laboratories Ltd, Crumlin, Co.Autrium, UK) на аутоматском анализатору Olympus AU 400 (Olympus, Tokyo, Japan). Принцип ове методе је инхибиција супероксида да реагује са 2-(4-јодофенил)-3(4-нитрофенол)-5-фенилтетразолијум хлоридом и награди обојени формазан. За генерисање супероксида користи се систем ксантин/ксантин оксидаза. Активност SOD се изражава интернационалним јединицама на грам хемоглобин (U/gHb), а референтни интервал износи 1092-1817 U/gHb.

Активност GPx одређивана је комерцијалним тестом Ransel, фирме Randox (Randox Laboratories Ltd, Crumlin, Co.Autrium, UK). Ransel тест се заснива на принципу методе Paglia и Valentine (1967), у којој глутатион пероксидаза катализује оксидацију редукованог глутатиона кумен хидропероксидом. У присуству глутатион редуктазе и NADPH оксидовани глутатион се одмах преводи у редуковани облик уз истовремену

оксидацију NADPH до NADP⁺ што је праћено падом апсорбанце на 340 nm. Активност ензима се изражава у јединицама на грам хемоглобин. Референтне вредности износе 29,6 до 82,9 U/gHb.

4.2.2. Одређивање стандардних биохемијских параметара

Стандардни биохемијски параметри одређивани су на Olympus анализатору (Olympus System Tokyo, Japan, Calibrator Cat. No. 66300. Хематолошки параметри (комплетна крвна слика) одређивани су на аутоматском анализатору Sysmex ХТ 2000i фирме Sysmex (Kobe, Japan). Хумани алфа фетопротеин (AFP) одређиван је fluoroimmunoassay методом коришћењем DELFIA hAFP комплекта фирме Wallac Oy.

Параметри коагулационог статуса одређивани су рутински, на апарату ACL Elitepro Rel.3.0.5, Instrumentation laboratory (USA).

4.2.3. Патохистолошка обрада и евалуација

Вршена је стандардна обрада делова јетре добијених аспирационом биопсијом, фиксацијом у 4% раствору формалина, уклапањем у парафин, са израдом стандардних хематоксилин-еозин препарата за микроскопску анализу и одређивањем карактеристика и узнапредовалости ХХЦ према Metavir класификацији.

4.2.4. Вирусолошке анализе

Анти-ХЦВ статус одређиван је четвртом генерацијом ELISA теста (Dia.Pro.Diagnostic, Bioprobes s.r.l, Italy) на високоаутоматизованом аналајзеру, Awareness Technologies ChemWell 2910, automated EIA and chemistry analyzer.

Вршено је квалитативно PCR одређивање ХЦВ РНК, тестом Cobas Amplicor Hepatitis C Virus Test version 2.0, осетљивост теста је 50 IU/mL плазме. Квантитативно real-time PCR одређивање ХЦВ РНК, реализовано је помоћу теста Cobas TaqMan HCV Test, осетљивост теста је 15 IU/mL. Одређивање генотипа ХЦВ вршено је тестом назива Linear Array C Virus Genotyping Test. Произвођач свих тестова фирма: Roche Molecular Systems Inc, Branchburg, NJ, USA.

4.2.5. Статистичка обрада података

Прикупљени подаци су верификовани од стране аутора, кодирани и унети у посебно формирану базу података. Статистичка обрада вршена је у програмском пакету SPSS 16.0. Добијени резултати су приказани табеларно и графички уз текстуални коментар. Од основних дескриптивних статистичких параметара коришћене су стандардне статистичке методе за квалитативну и квантитативну процену добијених резултата: апсолутни бројеви, релативни бројеви (%), аритметичка средина (\bar{X}), стандардна девијација (SD), медијана, интерквartilна разлика.

Нормалност дистрибуције индивидуалних вредности испитивана је Колмогоров-Смирновим тестом. За оцену значајности разлике (p) између две узорка вршено је t тестом или Mann Whitneyevim U тестом у зависности од дистрибуције података. За оцену значајности разлике између више узорка коришћена је анализа варијансе (ANOVA) или Kruskal-Wallis тест у зависности од дистрибуције података. Као post hoc анализа после ANOVA рађен је Tukijev тест, а после Kruskal-Wallisovog теста Mann Whitneyev U тест.

За тестирање статистичке значајности разлика апсолутних фреквенција међу узорцима коришћен је χ^2 тест и Fisherov тест егзактне вероватноће. За утврђивање међуповезаности међу параметрима запаљења одређиван је коефицијент просте линеарне корелације (r) или Спирманов коефицијент ранг корелације у зависности од дистрибуције података. Предиктивна вредност у односу на исход терапије одређивана је логистичком регресионом анализом. Статистичка хипотеза тестирана је на нивоу сигнификантности за ризик од $\alpha= 0,05$, тј. разлика међу узорцима сматра се значајном ако је $p<0.05$.

5. Резултати истраживања

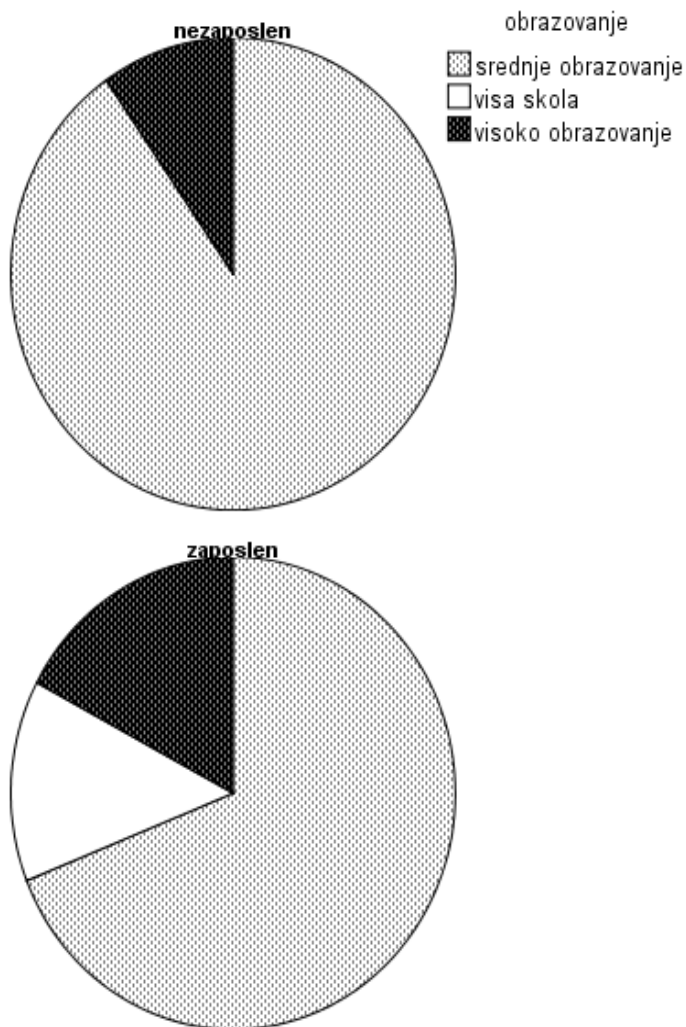
5.1. Резултати анализе општих карактеристика испитивањем обухваћених оболелих од хроничног хепатитиса Ц

5.1.1. Демографске карактеристике

У истраживање је укључено 109 испитаника, 53 испитаника (48,6%) са хепатитисом Ц и 56 здравих испитаника (51,4%). Није било статистички значајне разлике у дистрибуцији испитаника по групама ($\chi^2=0,138$, $p=0,710$). Дистрибуција испитаника према полу била је следећа: у групи оболелих од хепатитиса Ц било је 35 испитаника (66,0%) мушког пола и 19 испитаника (33,97%) женског пола, а у групи здравих испитаника било је 32 испитаника (57,1%) мушког пола и 24 испитаника (42,9) испитаника женског пола. Није било статистички значајне разлике у дистрибуцији пола према испитиваним групама ($\chi^2=0,573$, $p=0,449$).

Просечна старост свих испитаника била је $39,48\pm 14,12$ година. У групи испитаника са ХХЦ просечна старост испитаника била је $38,18\pm 9,81$ година, а у групи здравих испитаника била је $41,16\pm 11,91$ година. Није било статистички значајне разлике у старости између здравих испитаника испитаника оболелих од хепатитиса Ц ($\chi^2=0,563$, $p=0,434$). У групи испитаника оболелих од хепатитиса Ц просечна старост испитаника мушког пола била је $38,26\pm 8,90$ година, а просечна старост испитаника женског пола била је $41,50\pm 11,27$ година. Није било статистички значајне разлике у старости испитаника у односу на пол у групи оболелој од хепатитиса Ц ($t=1,062$, $p=0,297$). У групи здравих испитаника просечна старост испитаника мушког пола је била $45,88\pm 12,87$ година, а просечна старост испитаника женског пола је била $53,54\pm 14,30$ година. Постоји статистички значајна разлика у старости испитаника у односу на пол у здравој популацији ($t=46,652$, $p=0,044$).

Структура оболелих од хепатитиса Ц према занимању је била следећа: 26 испитаника (49,0%) је било запослено, а 27 испитаник (50,9%) је био незапослен. Структура оболелих према образовању је била следећа: 43 испитаника (81,1%) је имало средње образовање, 3 испитаника (5,6%) је имало вишу школу и 7 испитаника (13,2%) је имало високо образовање. На Графикону 1 је дата структура оболелих испитаника у односу на занимање и образовање.



Графикон 1. Структура оболелих од хепатитиса Ц према занимању и образовању

Порекло инфекције код оболелих од хепатитиса Ц је било следеће: код 24 испитаника (45,3%) је интравенска употреба дрога (ИВД), код 7 испитаника (11,7%) је хирушка интервенција, 5 испитаника (8,3%) је трансфузија, код 3 испитаника је стоматолошка интервенција, теговажа је била узрок инфекције код 3 испитаника (6,7%), мешовито порекло инфекције (у смислу да је испитаник имао интервенцију, трансфузију, неку дијагностичку процедуру, није сигурно порекло) утврђено је код 8 испитаника (13,3%). Код 3 испитаника (5,0%) није утврђено порекло инфекције. Просечно трајање инфекције било је $8,26 \pm 3,61$ година.

5.1.2. Хистолошки показатељи болести код оболелих од хроничног хепатитиса Ц

Степен инфламаторне активности показује следећу дистрибуцију у испитиваној популацији: први степен имало је 9 испитаника (17,0%), други степен имало је 20 испитаника (37,7%), трећи степен имало је 5 испитаника (9,4%), четврти степен имало је 8 испитаника (15,1%), пети степен имало је 5 испитаника (9,4%), шести степен имала су 4 испитаника (7,5%) и седми степен имала су 2 испитаника (3,8%).

Степен фиброзе (F) је био следећи: 21 испитаник (39,6%) је имао степен фиброзе 1, 22 испитаника (41,5%) су имала степен фиброзе 2, 5 испитаника (9,4%) су имала степен фиброзе 3 и 5 испитаника (9,4%) су имала степен фиброзе 4. Стеатоза је била присутна код 7 испитаника (13,2%).

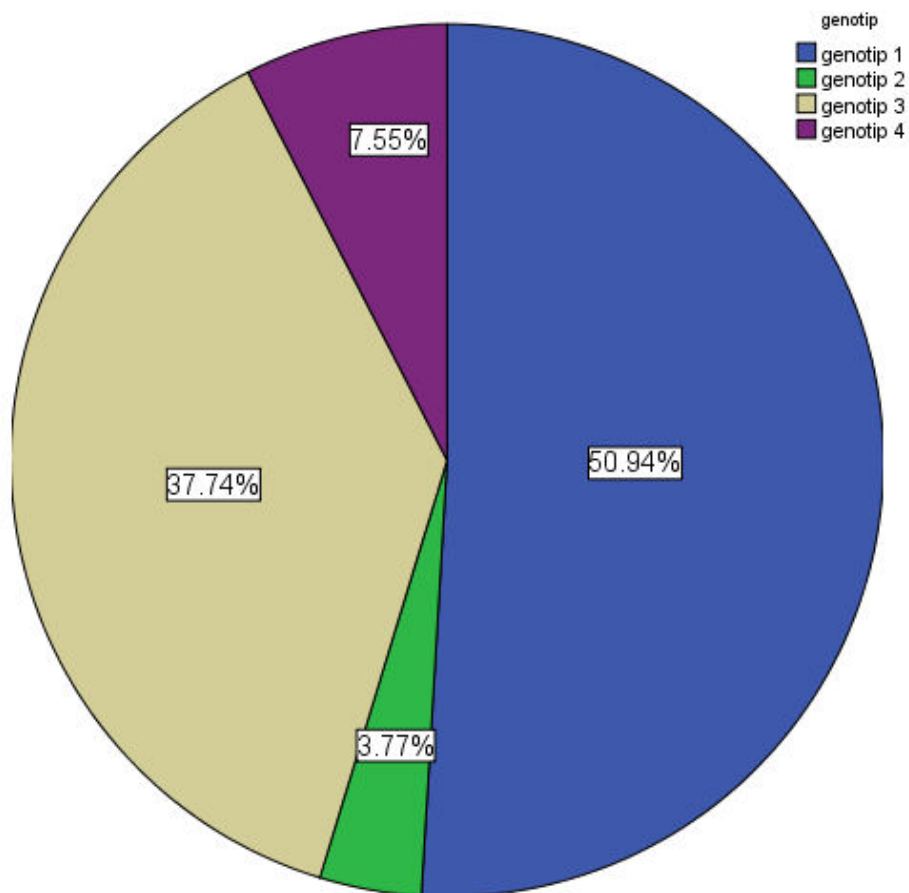
Табела 6. Степен фиброзе код појединих генотипова

Генотип	1	2	3	4	Укупно
F<2	9	1	9	3	22
F≥2	18	1	9	3	31
Укупно	27	2	18	6	

Није било статистички значајне разлике између хистолошке прогресије болести у односу на ХЦВ генотипове ($p > 0,05$) као што је приказано у Табели 6.

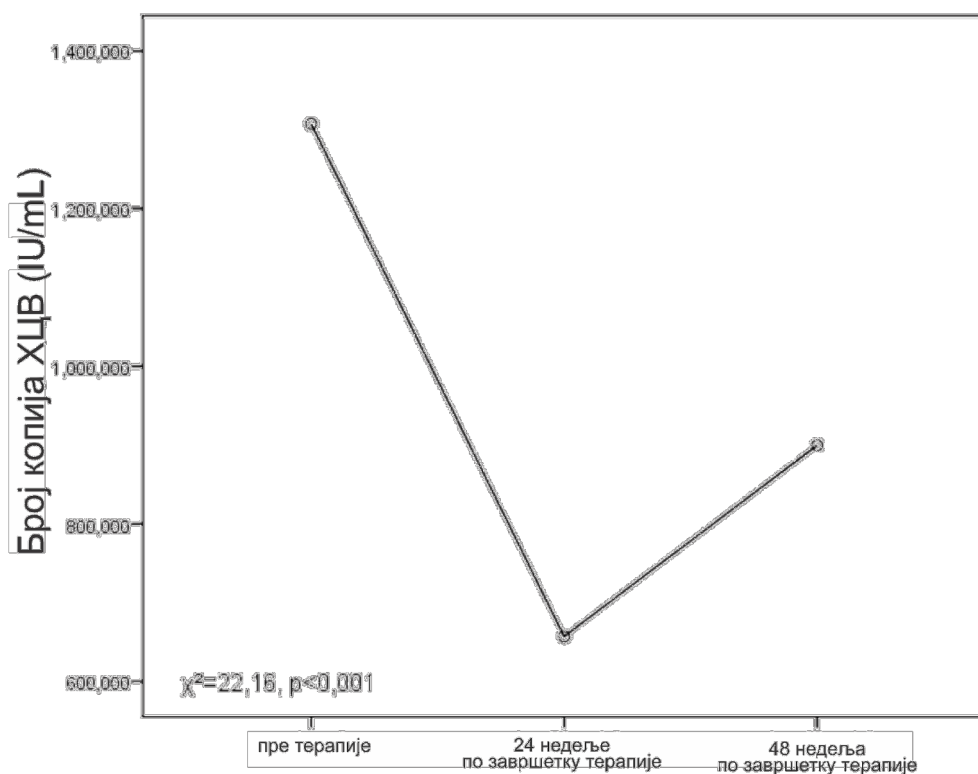
5.1.3. Вирусолошке карактеристике оболелих од хроничног хепатитиса Ц

Структура испитаника према генотипу је била следећа: генотип 1 су имала 27 испитаника (50,9%), генотип 2 су имала 2 испитаника (3,8%), генотип 3 је имало 20 испитаника (37,7%) и генотип 4 су имала 4 испитаника (7,5%) (Графикон 2).



Графикон 2. Структура испитаника према присутном генотипу

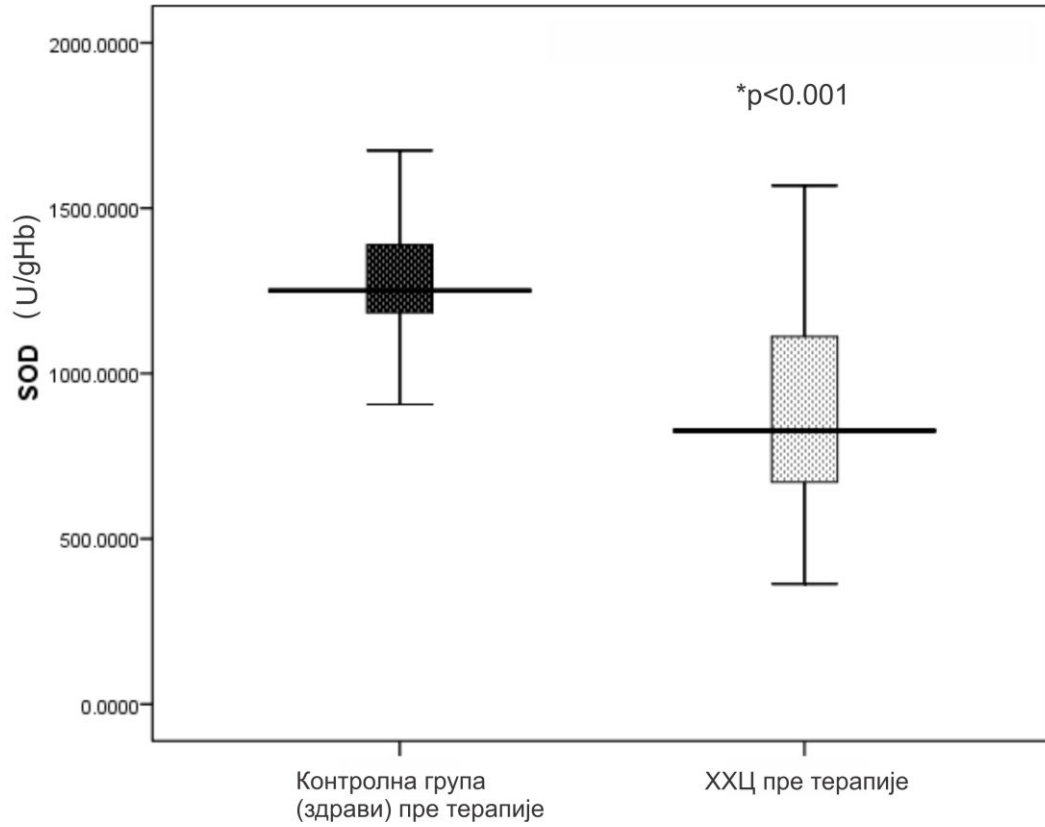
Ниво ХЦВ РНК пре терапије износио је $890895 \pm 152854,22$ IU/mL. Ниво ХЦВ РНК код испитаника са генотипом 1 и 4 пре терапије износио је $1310000 \pm 1892707,73$ IU/mL, након 24 недеље Ниво ХЦВ РНК код ових испитаника био је $657000 \pm 1892707,73$ IU/mL, а након 48 недеља био је $900000 \pm 2382230,807$ IU/mL. Користећи Фридманов тест утврђено је да постоји статистички значајна разлика у нивоу ХЦВ РНК током времена, тачније мереним пре терапије, након 48 недеља (време очекиваног постизања SVR код пацијената ХЦВ генотипа 2 и 3, лечених 24 недеље) и након 72 недеље (време очекиваног постизања SVR код пацијената ХЦВ генотипа 2 и 3, лечених 48 недеља) ($\chi^2=22,16$, $p<0,001$) (графикон 3). Код испитаника са генотипом 2 и 3 просечан број копија пре терапије био је $424000 \pm 435451,38$ IU/mL, након 48 недеља просечан број копија био је нула.



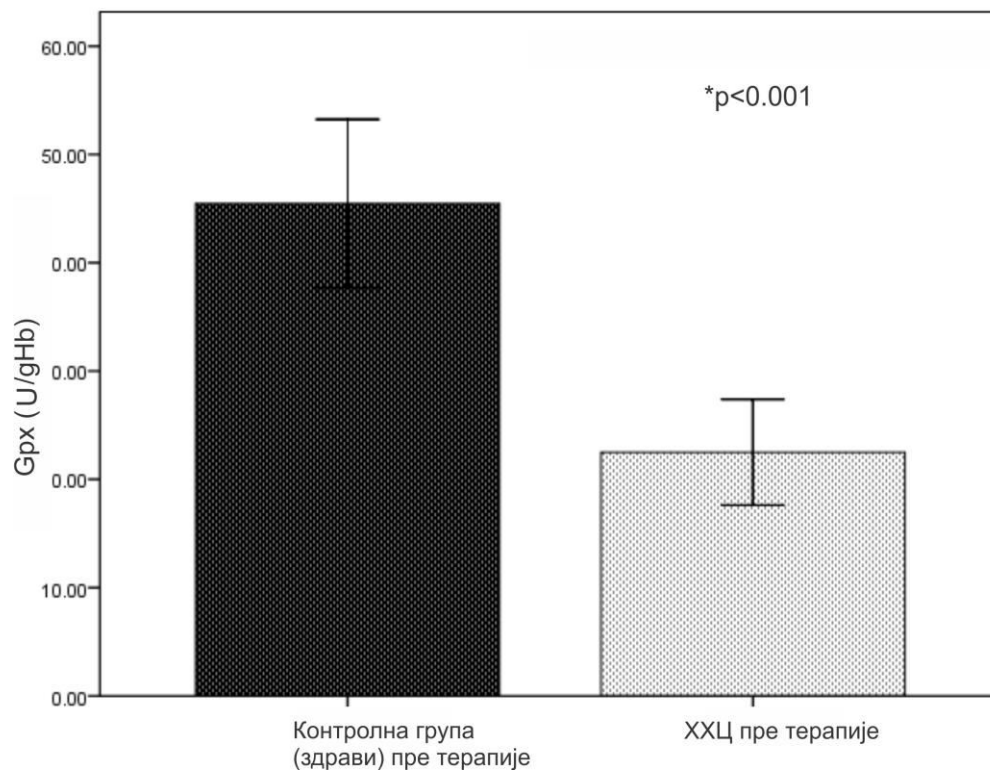
Графикон 3. Просечан број копија вируса хепатитиса Ц мерен пре терапије, након 24 недеље и након 48 недеља после завршетка терапије (тј. Након 48 недеља и након 72 недеље од почетка терапије) (IU/mL)

5.2. Резултати анализе активности антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на контролну групу

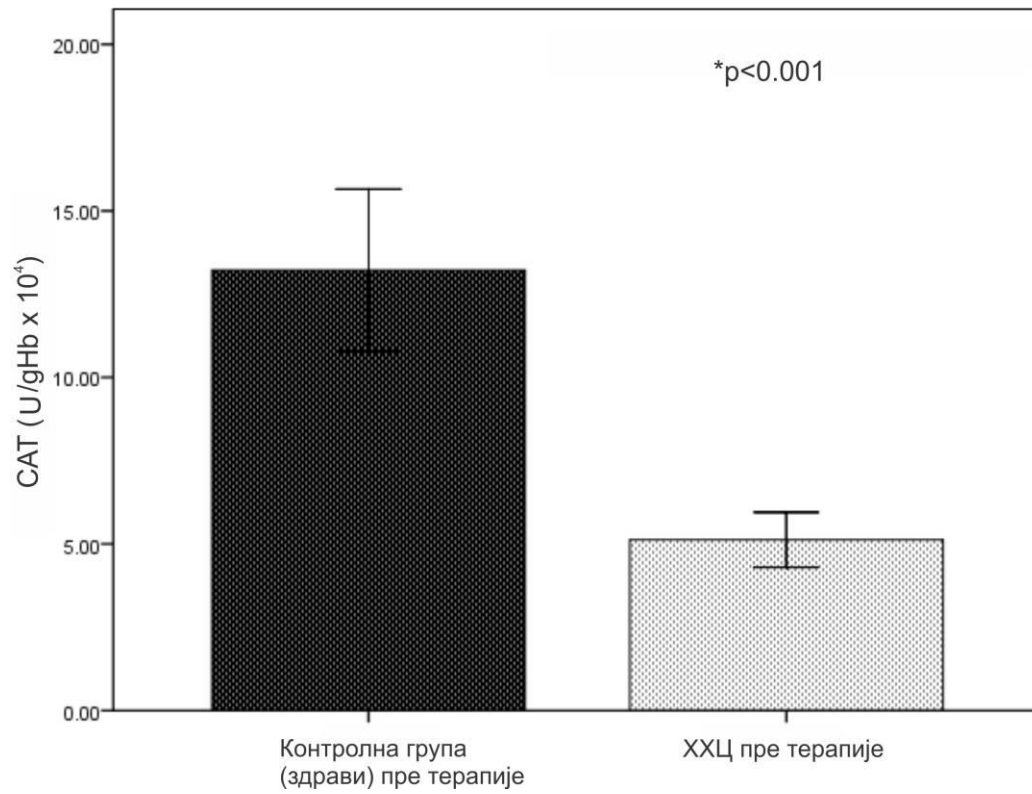
На Графиконима 4, 5 и 6 приказана је базична активност антиоксидативних ензима пацијената са ХХЦ у односу на контролну групу, док су вредности параметара који се уобичајено прате код пацијената са ХХЦ (крвна слика и резултати теста функције јетре, али и параметри запаљења и алфа фето протеин) приказани табеларно (Табела 7).



Графикон 4. Активност SOD код пацијената са хроничним хепатитисом Ц пре терапије у односу на контролну групу



Графикон 5. Активност ГРх код пацијената са хроничним хепатитисом Ц пре терапије у односу на контролну групу



Графикон 6. Активност САТ код пацијената са хроничним хепатитисом Ц пре терапије у односу на контролну групу

Табела 7. Биохемијски параметри евалуације хепатитиса Ц у односу на контролну групу

	Оболели ХХЦ n=53	од Здрави испитаници n=56	p	
Леукоцити ($10^9/L$)	7,14±1,28	7,15±1,57	0,303	0,762
Неутрофили ($10^9/L$)	3,76±1,03	3,87±1,20	0,147	0,883
Лимфоцити ($10^9/L$)	2,53±0,84	2,68±0,81	0,702	0,482
Седиментација	9,51±4,18	7,55±3,85	2,141	0,032
Еритроцити ($10^{12}/L$)	4,39±0,43	4,48±0,42	0,915	0,363
Хемоглобин (g/L)	136,87±8,16	138,83±10,54	0,974	0,333
Хематокрит (%)	41,51±3,91	42,01±4,16	0,583	0,561
Тромбоцити ($10^9/L$)	265,45±63,76	272,20±56,57	1,155	0,248
AST (U/L)	66,58±44,30	22,52±7,43	8,588	<0,001
ALT (U/L)	85,72±41,74	27,80±19,35	8,392	<0,001
Укупни билирубин (umol/L)	12,04±8,99	11,31±5,41	0,038	0,970
Директни билирубин (umol/L)	2,82±2,11	2,11±1,24	2,143	0,032
AF (U/L)	64,37±23,24	61,57±16,77	0,310	0,756
GGT (U/L)	44,07±39,83	21,30±13,47	3,586	<0,001
LDH (U/L)	339,69±51,55	327,43±55,71	1,351	0,177
Триглицериди (mmol/L)	1,31±0,37	1,48±0,60	0,691	0,490
Холестерол (mmol/L)	4,10±0,77	4,19±0,83	0,050	0,960
hsCRP (mg/L)	1,35±4,79	2,02±2,43	4,196	<0,001
Албумин (g/L)	43,08±6,19	44,56±4,32	0,990	0,322
Алфа фето протеин (ng/mL)	13,53±28,14	3,00±0,68	2,002	<0,05
Протромбинско време (%)	89,90±9,98	92,66±8,31	0,051	0,034
Активирано парцијално тромбопластинско време (sec)	28,15±2,52	28,66±2,14	0,049	0,064
Фибриноген (mg/dL)	3,26±0,88	3,15±0,83	0,061	0,042

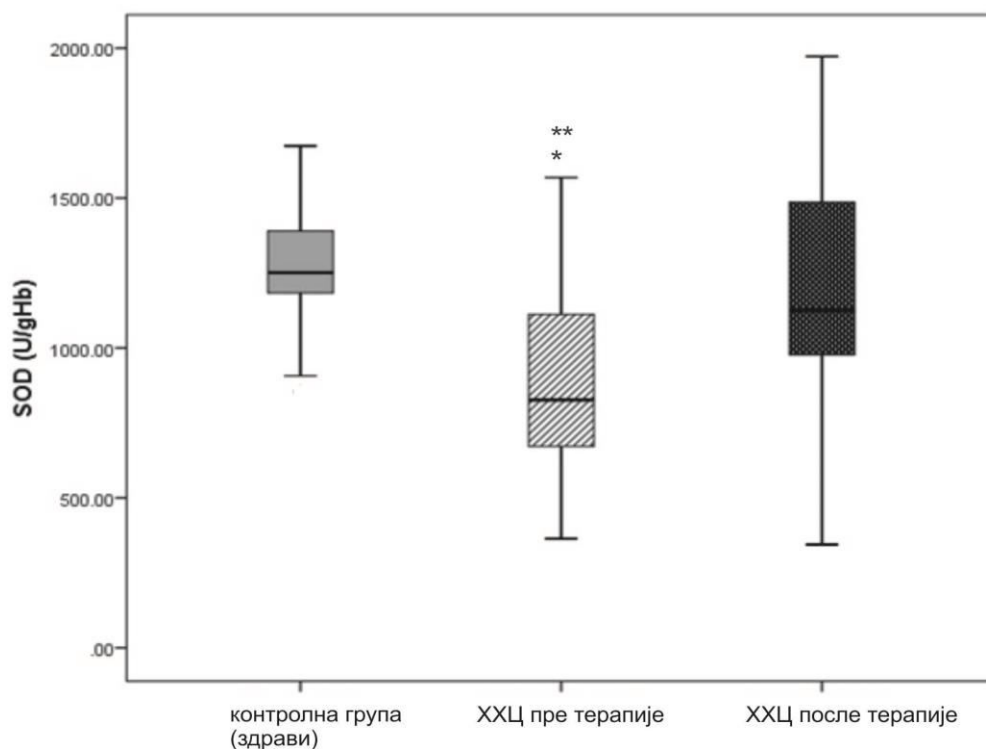
Упоредњујући вредности испитиваних параметара код оболелих од хепатитиса Ц у односу на контролну групу утврђено је да постоји статистички значајна разлика у

активности SOD пре терапије између ове две групе ($913,41 \pm 322,02$ U/gHb vs $1783,90 \pm 189,69$ U/gHb, $z = -6,081$, $p < 0,001$) (Графикон 4). Активност GPx код оболелих испитаника пре терапије била је статистички значајно мања у односу на здраве испитанике ($22,49 \pm 4,88$ U/gHb vs $45,46 \pm 7,77$ U/gHb, $t = 18,363$, $p < 0,001$) (Графикон 5). Активност CAT је била статистички значајно мања код оболелих испитаника пре терапије у односу на здраве испитанике ($5,12 \pm 0,83$ U/gHb $\times 10^4$ vs $13,22 \pm 2,44$ U/gHb $\times 10^4$, $t = 22,939$, $p < 0,001$) (Графикон 6).

Седиментација еритроцита је била статистички значајно већа код оболелих од хепатитиса Ц у односу на вредности седиментације код здравих испитаника ($9,51 \pm 4,18$ vs $7,55 \pm 3,85$, $z = -2,141$, $p = 0,032$). Активност AST код оболелих од хепатитиса Ц је била статистички значајно већа у односу на активност овог ензима код здравих испитаника ($66,58 \pm 44,30$ U/L vs $22,52 \pm 7,43$ U/L, $z = -8,588$, $p < 0,001$). Активност ALT је, такође, била статистички значајно већа код оболелих у односу на здраве испитанике ($85,72 \pm 41,74$ U/L vs $27,80 \pm 19,35$ U/L, $z = -8,392$, $p < 0,001$). Концентрација укупног билирубина код оболелих испитаника била је $12,04 \pm 8,99$ $\mu\text{mol/L}$, а код здравих испитаника била је $11,31 \pm 5,41$ $\mu\text{mol/L}$. Није било статистички значајне разлике у концентрацији укупног билирубина у између испитиваних група ($p = 0,970$). Упоредивши концентрације директног билирубина показно је да постоји статистички значајна разлика између испитиваних група ($2,82 \pm 2,11$ $\mu\text{mol/L}$ vs $2,11 \pm 1,24$ $\mu\text{mol/L}$, $z = -2,143$, $p = 0,032$). Активност гама глутамил трансептидазе (GGT) је била статистички значајно већа код оболелих у односу на здраве испитанике ($44,07 \pm 39,83$ U/L vs $21,30 \pm 13,47$ U/L, $z = -3,586$, $p < 0,001$). Концентрација hsCRP била је статистички значајно већа код здравих испитаника у односу на оболеле од хепатитиса Ц ($2,02 \pm 2,43$ mg/L vs $1,35 \pm 4,79$ mg/L, $z = -4,196$, $p < 0,001$) као и вредност фибриногена ($p = 0,034$). Није уочена статистички значајна разлика у активности лактат дехидрогеназе (LDH) и алкалне фосфатазе (AF) између здравих испитаника и оболелих од ХХЦ, као ни холестерола, триглицерида, албумина и параметара коагулационог статуса се, протромбинског времена (Табела 7).

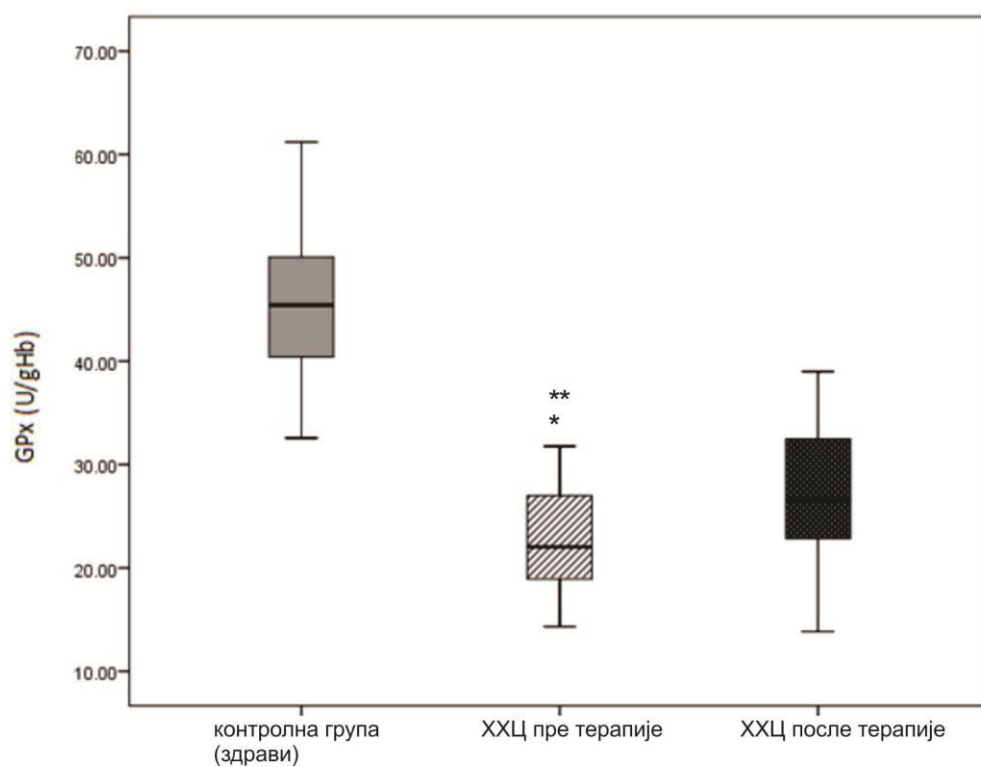
5.3. Резултати анализе активности антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц пре и после терапије пегилованим интерфероном алфа-2а и рибавирином

На Графиконима 7, 8 и 9 приказано је како се променила активност антиоксидативних ензима после терапије у односу на базичне нивое. Анализа крвне слике и вредности параметара функције јетре, после терапије у односу на базичне, приказана је на Табели 8.



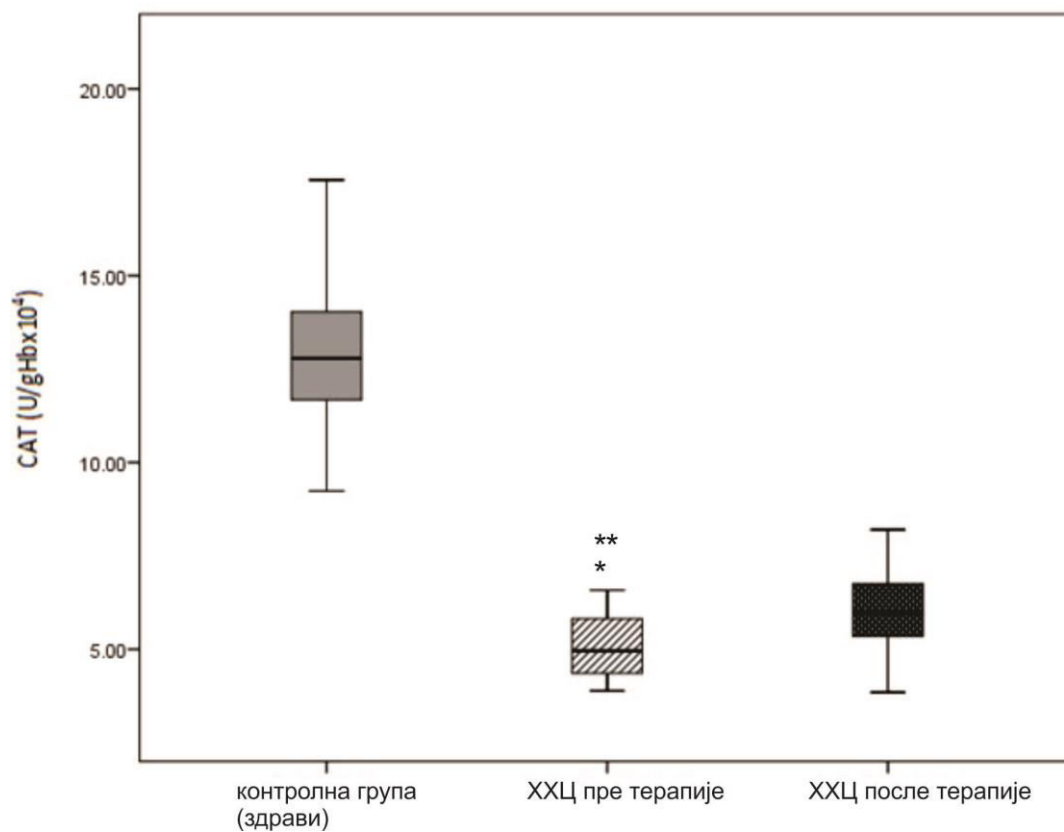
Графикон 7. Активност SOD код пацијената пре и после терапије као и код контролне групе испитаника.

* $p < 0.001$ – у односу на контролну групу, ** $p < 0.001$ – у односу на пацијенте са XXЦ после терапије



Графикон 8. Активност GPx код пацијената пре и после терапије као и код контролне групе испитаника.

* $p < 0.001$ – у односу на контролну групу, ** $p < 0.001$ – у односу на пацијенте са XXЦ после терапије



Графикон 9. Активност САТ код пацијената пре и после терапије као и код контролне групе испитаника.

* $p < 0.001$ – у односу на контролну групу, ** $p < 0.001$ – у односу на пацијенте са XXЦ после терапије

Табела 8. Биохемијски параметри евалуације хроничног хепатитиса Ц пре и после терапије

	Пре терапије	После терапије	p	
Леукоцити ($10^9/L$)	7,11±1,21	7,05±1,70	-1,612	0,107
Неутрофили ($10^9/L$)	3,75±0,99	3,88±1,26	-0,715	0,475
Лимфоцити ($10^9/L$)	2,46±0,81	2,60±0,87	-0,146	0,884
Седиментација	9,35±4,08	8,65±4,97	-1,146	0,253
Еритроцити ($10^{12}/L$)	4,47±0,52	4,44±0,40	0,994	0,325
Хемоглобин (g/L)	137,20±8,15	138,00±10,47	1,183	0,242
Хематокрит (%)	41,57±3,84	41,83±3,87	0,844	0,403
Тромбоцити ($10^9/L$)	265,93±67,32	259,15±60,07	-1,155	0,248
AST (U/L)	64,49±42,08	28,64±40,76	-5,900	<0,001
ALT (U/L)	82,77±40,19	32,45±37,82	-6,122	<0,001
Укупни билирубин (umol/L)	11,88±8,46	11,23±7,32	-1,806	0,071
Директни билирубин (umol/L)	2,74±2,01	2,78±2,13	-2,731	0,006
AF (U/L)	63,71±22,14	60,65±7,85	-1,744	0,081
GGT (U/L)	41,18±38,31	27,44±19,22	-4,214	<0,001
LDH (U/L)	345,02±51,14	332,88±56,82	-0,572	0,567
Триглицериди (mmol/L)	1,30±0,36	1,38±0,60	-0,022	0,982
Холестерол (mmol/L)	4,10±0,75	4,10±0,82	-0,784	0,433
hsCRP (mg/L)	1,35±4,79	0,95±3,94	-3,666	<0,001
Албумин (g/L)	43,08±6,19	43,56±4,99	-0,956	0,339

Код пацијената са ХХЦ просечна активност SOD пре терапије била је $952,39 \pm 322,68$ U/gHb, а након терапије била је $1172,83 \pm 415,67$ U/gHb. Постоји статистички значајна разлика у активности SOD пре у односу на после терапије ($z = -6,069$, $p < 0,001$) (Графикон 7). Активност GPx била је статистички значајно већа након терапије него пре терапије ($26,89 \pm 6,71$ U/gHb vs $22,61 \pm 4,64$ U/gHb, $t = 15,302$, $p < 0,001$) (Графикон 8). Активност CAT била је статистички значајно већа након терапије него пре терапије ($6,03 \pm 0,99$ U/gHb $\times 10^4$ vs $5,04 \pm 0,82$ U/gHb $\times 10^4$, $t = 15,403$, $p < 0,001$) (Графикон 9). Упоређујући вредности антиоксидативних ензима након терапије у односу на здраве испитанике показано је да не постоји статистички значајна разлика у

вредностима SOD у односу на испитиване групе ($p=0,061$) (Графикон 7). Активност GPx после терапије је била статистички значајно мања код оболелих у односу на здраве испитанике ($26,89\pm 6,71$ U/gHb vs $45,46\pm 7,71$ U/gHb, $t=13,37$, $p<0,001$) (Графикон 8). Активност CAT после терапије код оболелих од хепатитиса Ц била је статистички значајно мања у односу на здраве испитанике ($6,00\pm 0,99$ U/gHb $\times 10^4$ vs $13,22\pm 2,43$ U/gHb $\times 10^4$, $t=20,431$, $p<0,001$) (Графикон 9).

Број леукоцита након терапије био је мањи у односу на период пре примењиване терапије ($7,05\pm 1,70$ $10^9/L$ vs $7,11\pm 1,21$ $10^9/L$), али није било статистички значајне разлике у испитиваним вредностима ($p=0,107$). Број неутрофила је био мањи пре терапије у односу на период после исте ($3,75\pm 0,99$ $10^9/L$ vs $3,88\pm 1,26$ $10^9/L$), али није било статистички значајне разлике ($p=0,475$). Број лимфоцита је био мањи пре деловања терапије него после деловања исте ($2,46\pm 0,81$ $10^9/L$ vs $2,60\pm 0,87$ $10^9/L$), али није било статистички значајне разлике ($p=0,884$). Седиментација пре деловања терапије била је виша у односу на период после деловање ($9,35\pm 4,08$ vs $8,65\pm 4,97$), међутим није дошло до статистички значајне промене у испитиваном параметру ($p=0,253$) (Табела 8).

Број еритроцита је смањен током терапије ($4,47\pm 0,52$ $10^{12}/L$ vs $4,44\pm 0,40$ $10^{12}/L$), али није било статистички значајне разлике у испитиваним вредностима ($p=0,325$). Ниво хемоглобина је повећан током примене терапије ($137,20\pm 8,15$ g/L vs $138,00\pm 10,47$ g/L). Није дошло до статистички значајне промене нивоа хемоглобина током примене терапије ($p=0,242$). Вредности хематокрита су се повећале током терапије ($41,57\pm 3,84$ % vs $41,83\pm 3,87$ %), али није дошло до статистички значајне промене вредности хематокрита пре и после терапије ($p=0,403$). Број тромбоцита није статистички значајно промењен током примене терапије ($265,93\pm 67,32$ $10^9/L$ vs $259,15\pm 60,07$ $10^9/L$, $p=0,248$). Активност AST је статистички значајно смањена током терапије ($64,49\pm 42,08$ U/L vs $28,64\pm 40,76$ U/L, $p<0,001$). Активност ALT је, такође, статистички значајно смањена током примене терапије ($82,77\pm 40,19$ U/L vs $32,45\pm 37,82$ U/L, $p<0,001$). Вредности укупног билирубина нису статистички значајно промењене током терапије ($11,88\pm 8,46$ $\mu\text{mol}/L$ vs $11,23\pm 7,32$ $\mu\text{mol}/L$, $p=0,071$). Вредности директног билирубина су статистички значајно повећане током терапије ($2,74\pm 2,01$ $\mu\text{mol}/L$ vs $2,78\pm 2,13$ $\mu\text{mol}/L$, $z=-2,731$, $p=0,006$) (Табела 8).

Активност AF се није статистички значајно променила током терапије ($p=0,081$). Активност GGT се статистички значајно смањила током терапије ($41,18\pm 38,31$ U/L vs $27,44\pm 19,22$ U/L, $z=-4,214$, $p<0,001$). Вредности LDH се нису статистички значајно промениле током примене терапије ($p=0,567$). Вредности триглицерида се нису статистички значајно мењале током примене терапије ($p=0,982$). Концентрација холестерола се није статистички значајно мењала током примењиване терапије ($p=0,433$). Концентрација hsCRP се статистички значајно променила током примене терапије ($1,35\pm 4,79$ mg/L vs $0,95\pm 3,94$ mg/L, $z=-3,666$, $p<0,001$) (Табела 8).

Табела 9. Корелациона анализа базичних активности антиоксидативних ензима и аминотрансфераза

	GPx	CAT	AST	ALT
SOD	0,722** <0,001	0,740** <0,001	-0,317** 0,001	-0,314** 0,001
GPx	-	0,873** <0,001	-0,504** <0,001	-0,603** <0,001
CAT		-	-0,530** <0,001	-0,610** <0,001
AST			-	0,901** <0,001

** $p<0,001$

Корелациона анализа је показала да између свих испитиваних параметара пре терапије постоји високо статистички значајна корелација. Статистички значајна позитивна корелација постоји између: SOD и GPx ($r=0,722$, $p<0,001$), SOD и CAT ($r=0,740$, $p<0,001$), GPx и CAT ($r=0,873$, $p<0,001$), AST и ALT ($r=0,901$, $p<0,001$). Статистички значајна негативна корелација постоји између следећих параметара: SOD и AST ($r=-0,317$, $p<0,001$), SOD и ALT ($r=-0,314$, $p<0,001$), GPx и AST ($r=-0,504$, $p<0,001$), GPx и ALT ($r=-0,610$, $p<0,001$), CAT и AST ($r=-0,530$, $p<0,001$), CAT и ALT ($r=-0,610$, $p<0,001$) (Табела 9).

Табела 10. Корелациона анализа посттерапијских активности антиоксидативних ензима и аминотрансфераза

	GPx	CAT	AST	ALT
SOD	0,507** <0,001	0,429** <0,001	-0,169 0,080	-0,174 0,070
GPx	-	0,823** <0,001	-0,193* 0,044	-0,215* 0,025
CAT		-	-0,144 0,134	-0,129 0,181
AST			-	0,912** <0,001

**p<0,001

Статистички значајна позитивна корелација после терапије постоји између: SOD и GPx ($r=0,507$, $p<0,001$), SOD и CAT ($r=0,429$, $p<0,001$), GPx и CAT ($r=0,823$, $p<0,001$), AST и ALT ($r=0,912$, $p<0,001$). Статистички значајна негативна корелација постоји између следећих параметара: GPx и AST ($r=-0,193$, $p=0,044$), GPx и ALT ($r=-0,215$, $p=0,025$) (Табела 10).

Табела 11. Корелациона анализа базичних активности антиоксидативних ензима са базичним вредностима индиректних показатеља хистолошке прогресије хроничног хепатитиса Ц

	GPX	CAT	hsCRP	HAI	Албумин	AFP	AST
SOD	0,888 <0,001	0,870 <0,001	-0,132 0,347	-0,159 0,256	0,175 0,209	0,021 0,883	0,044 0,752
GPx	-	0,842 <0,001	-0,198 0,156	-0,103 0,462	0,104 0,459	0,087 0,536	0,050 0,722
CAT		-	-0,158 0,260	-0,20 0,886	0,075 0,595	0,011 0,940	0,019 0,894
hsCRP			-	0,148 0,289	-0,380 0,005	0,457 0,001	0,632 <0,001
HAI				-	-0,114 0,416	0,020 0,889	-0,054 0,699
Албумин					-	-0,259 0,061	-0,423 0,002
AFP						-	0,709 <0,001

Корелациона анализа је показала да постоји статистички значајна корелација између следећих параметара: SOD пре терапије и GPx пре терапије ($r=0,888$, $p<0,001$), SOD пре терапије и CAT пре терапије ($r=0,870$, $p<0,001$), GPx пре терапије и CAT пре терапије ($r=0,842$, $p<0,001$), hsCRP и албумина ($r=-0,380$, $p=0,005$), hsCRP и AFP ($r=0,457$, $p=0,001$), hsCRP и AST пре терапије ($r=0,632$, $p<0,001$), албумин и AST пре терапије ($r=-0,423$, $p=0,002$), као и AFP и AST пре терапије ($r=0,709$, $p<0,001$) (Табела 11).

Највећа промена вредности параметара оксидативног стреса код свих оболелих од хепатитиса Ц упоређујући вредности после терапије у односу на вредности пре терапије била у активности GPx ($0,60\pm 0,18$), затим у активности CAT ($0,36\pm 0,23$), а најмања у активности SOD ($0,32\pm 0,23$).¹

¹ за сваког испитаника израчуната је з-вредност, а након тога одређена просечна з-вредност на основу које је вршени поређење.

5.4. Резултати анализе базичних и посттерапијских активности антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на исход терапије

На Табели 12 су приказани испитивани параметри пре терапије (антиоксидативни ензими, крвне слике, функције јетре, запаљења и HAI) у односу на исход терапије. Испитаници са ХЦВ позитивним исходом терапије (нису постигли SVR) су били старији у односу на испитанике са ХЦВ негативним исходом терапије (нису постигли SVR) ($43,14 \pm 9,79$ година vs $38,78 \pm 9,76$ година), али није било статистички значајне разлике у старости у односу на исход терапије ($p=0,304$) (Табела 12).

Испитаници који нису постигли SVR су пре терапије имали статистички значајно ниже вредности SOD у односу на испитанике који су постигли SVR ($503,89 \pm 87,10$ U/gHb vs $975,73 \pm 297,92$ U/gHb, $z=-4,019$, $p<0,001$). Активност GPx пре терапије је била статистички значајно нижа код испитаника који нису постигли SVR у односу на испитанике који су постигли SVR ($15,44 \pm 0,89$ U/gHb vs $23,56 \pm 4,31$ U/gHb, $t=46,431$, $p<0,001$). Активност CAT пре терапије је била статистички значајно нижа код испитаника који који нису постигли SVR у односу на оне који су постигли SVR ($4,34 \pm 0,21$ U/gHb $\times 10^4$ vs $5,24 \pm 0,82$ U/gHb $\times 10^4$, $t=38,194$, $p<0,001$) (Табела 12).

Број леукоцита пре терапије је био већи код испитаника који нису постигли SVR у односу на испитанике који су постигли SVR ($7,89 \pm 1,49$ $10^9/L$ vs $7,02 \pm 1,22$ $10^9/L$), али није било статистички значајне разлике у броју леукоцита пре терапије у односу на каснији исход ($p=0,133$). Број неутрофила пре терапије био је статистички значајно већи код испитаника који нису постигли SVR у односу на оне који су постигли SVR ($4,66 \pm 0,81$ $10^9/L$ vs $3,63 \pm 0,99$ $10^9/L$, $z=-2,326$, $p=0,018$). Број лимфоцита пре терапије био је мањи код испитаника који нису постигли SVR у односу на оне који су постигли SVR исход терапије ($2,28 \pm 0,95$ $10^9/L$ vs $2,56 \pm 0,83$ $10^9/L$), али није било статистички значајне разлике у броју лимфоцита пре терапије у односу на исход ($p=0,580$) (Табела 12).

Није било статистички значајне разлике у вредности седиментације пре терапије у односу на исход ($4,21 \pm 0,57$ vs $4,42 \pm 0,40$, $p=0,928$). Није било статистички значајне разлике у броју еритроцита пре терапије у односу на исход терапије ($4,21 \pm 0,57$ $10^{12}/L$ vs $4,42 \pm 0,40$ $10^{12}/L$, $p=0,366$) (Табела 12).

Табела 12. Базичне активности антиоксидативних ензима и биохемијски параметри евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на исход терапије

	Исход терапије			P
	ХЦВ позитиван	ХЦВ негативан		
	(није постигнут	(постигнут		
	SVR)	SVR)		
	n=7	n=46		
Старост (године)	43,14±9,79	38,78±9,76	7,931	0,304
SOD (U/gHb)	503,89±87,10	975,73±297,92	-4,019	<0,001
GPx (U/gHb)	15,44±0,89	23,56±4,31	46,431	<0,001
CAT (U/gHb×10 ⁴)	4,34±0,21	5,24±0,82	38,194	<0,001
Леукоцити (10 ⁹ /L)	7,89±1,49	7,02±1,22	-1,525	0,133
Неутрофили (10 ⁹ /L)	4,66±0,81	3,63±0,99	-2,326	0,018
Лимфоцити (10 ⁹ /L)	2,28±0,95	2,56±0,83	-0,565	0,580
Седиментација	9,14±2,34	9,57±4,41	-0,106	0,928
Еритроцити (10 ¹² /L)	4,21±0,57	4,42±0,40	6,949	0,366
Хемоглобин (g/L)	135,14±8,47	137,13±8,18	7,801	0,578
Хематокрит (%)	40,60±4,17	41,65±3,89	7,681	0,548
Тромбоцити (10 ⁹ /L)	258,00±72,85	266,59±636,09	-0,434	0,671
AST (U/L)	76,57±73,85	65,06±39,03	-0,552	0,598
ALT (U/L)	94,37±70,43	84,40±36,58	-0,289	0,787
Укупни билирубин (umol/L)	11,16±7,88	12,71±9,21	-1,806	0,071
Директни билирубин (umol/L)	2,34±1,07	2,89±2,22	-0,552	0,598
AF (U/L)	52,64±12,09	66,15±24,08	-1,603	0,113
GGT (U/L)	41,70±34,34	44,43±40,92	-0,434	0,671
LDH (U/L)	332,15±54,37	340,89±51,64	-0,315	0,758
Триглицериди (mmol/L)	1,32±0,43	1,31±0,36	-0,118	0,908
Холестерол (mmol/L)	4,23±0,93	4,08±0,75	-0,118	0,908
hcCRP (mg/L)	5,89±12,88	0,66±0,86	-2,063	0,037
Албумин (g/L)	39,18±5,83	43,67±6,08	-1,668	0,096
NAI	4,29±1,89	2,80±1,61	-2,009	0,045

Ниво хемоглобина пре терапије није био статистички значајно различит између испитаника који нису постигли SVR и који су постигли SVR ($135,14 \pm 8,47$ g/L vs $137,13 \pm 8,18$ g/L, $p=0,578$). Вредности хематокрита пре терапије нису биле статистички значајно различите у односу на каснији исход терапије ($40,60 \pm 4,17\%$ vs $41,65 \pm 3,89\%$, $p=0,548$). Број тромбоцита пре терапије је био мањи код испитаника који нису постигли

SVR у односу на испитанике који су постигли SVR. ($258,00 \pm 72,85$ 10^9 /L vs $266,59 \pm 636,09$ 10^9 /L), али није било статистички значајне разлике ($p=0,671$). Активност AST пре терапије није била статистички значајно различита у односу на каснији исход терапије ($76,57 \pm 73,85$ U/L vs $65,06 \pm 39,03$ U/L, $p=0,598$). Активност ALT пре терапије нису биле статистички значајно различите у односу на каснији исход терапије ($94,37 \pm 70,43$ U/L vs $84,40 \pm 36,58$ U/L, $p=0,787$). Вредности укупног билирубина пре терапије нису биле статистички значајно различите у односу на исход терапије ($11,16 \pm 7,88$ $\mu\text{mol/L}$ vs $12,71 \pm 9,21$ $\mu\text{mol/L}$, $p=0,071$). Активности директног билирубина пре терапије нису биле статистички значајно различите у односу на каснији исход терапије ($2,34 \pm 1,07$ $\mu\text{mol/L}$ vs $2,89 \pm 2,22$ $\mu\text{mol/L}$, $p=0,598$). Активности АФ пре терапије је била мања код испитаника који су остали ХЦВ позитивни после терапије ($52,64 \pm 12,09$ U/L vs $66,15 \pm 24,08$ U/L), али није било статистички значајне разлике ($p=0,113$). Није било статистички значајне разлике у активности GGT пре терапије у односу на исход терапије ($41,70 \pm 34,34$ U/L vs $44,43 \pm 40,92$ U/L, $p=0,671$). Активности LDH пре терапије се није статистички значајно мењала у односу на исход терапије ($332,15 \pm 54,37$ U/L vs $340,89 \pm 51,64$ U/L, $p=0,758$). Триглицериди пре терапије нису статистички значајно мењали у односу на исход терапије ($1,32 \pm 0,43$ mmol/L vs $1,31 \pm 0,36$ mmol/L, $p=0,908$). Ниво холестерола пре терапије се није статистички значајно мењао у односу на исход терапије ($4,23 \pm 0,93$ mmol/L vs $4,08 \pm 0,75$ mmol/L, $p=0,908$). Ниво hsCRP пре терапије код испитаника који нису постигли SVR је био статистички значајно већи у односу на испитанике који су постигли SVR ($5,89 \pm 12,88$ mg/L vs $0,66 \pm 0,86$ mg/L, $z=-2,063$, $p=0,037$). Просечан НАИ скор је био статистички значајно већи код испитаника који су имали позитиван исход терапије ($2,80 \pm 1,61$ vs $4,29 \pm 1,89$, $z=-2,009$, $p=0,045$) (Табела 12).

Табела 13. Послетерапијске активности антиоксидативних ензима и биохемијски параметри евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на исход терапије

	Исход терапије			P
	ХЦВ позитиван	ХЦВ негативан		
	(није постигнут	(Постигнут		
	SVR)	SVR)		
	n=7	n=46		
SOD (U/gHb)	475,90±99,33	1288,74±337,91	-4,230	<0,001
GPx (U/gHb)	15,52±1,32	28,72±5,45	40,178	<0,001
CAT (U/gHb×10 ⁴)	4,36±0,29	6,27±0,81	11,604	<0,001
Леукоцити (10 ⁹ /L)	7,72±1,83	6,96±1,69	-1,099	0,278
Неутрофили (10 ⁹ /L)	4,57±0,94	3,77±1,28	-1,770	0,077
Лимфоцити (10 ⁹ /L)	2,29±0,99	2,65±0,85	7,440	0,378
Седиментација	10,00±6,66	8,36±4,74	-0,498	0,636
Еритроцити (10 ¹² /L)	4,34±0,34	4,46±0,42	8,910	0,436
Хемоглобин (g/L)	137,14±11,30	138,34±10,65	7,650	0,834
Хематокрит (%)	40,96±3,33	42,02±4,04	7,801	0,578
Тромбоцити (10 ⁹ /L)	239,71±61,79	267,09±56,35	-0,867	0,401
AST (U/L)	63,07±109,85	23,24±10,12	-0,342	0,748
ALT (U/L)	64,93±101,99	27,39±8,90	-0,342	0,748
Укупни билирубин (umol/L)	12,10±11,08	11,25±6,86	-1,511	0,133
Директни билирубин (umol/L)	2,28±1,29	2,89±2,28	-0,711	0,495
AF (U/L)	54,16±18,45	62,58±17,57	-1,143	0,259
GGT (U/L)	39,46±43,66	25,67±12,28	-0,736	0,478
LDH (U/L)	351,82±76,42	328,87±53,58	-1,287	0,208
Триглицериди (mmol/L)	1,56±0,84	1,35±0,57	-0,118	0,908
Холестерол (mmol/L)	3,98±1,08	4,12±0,79	-0,749	0,462
hsCRP (mg/L)	4,69±10,72	0,37±0,34	-2,431	0,013
Албумин (g/L)	40,27±5,19	44,06±4,82	-1,577	0,120

На табели 13 су приказани активност антиоксидативних ензима и биохемијски параметри евалуације хроничног хепатитиса Ц после терапије у односу на исход

терапије. Активност SOD је била статистички значајно већа код испитаника са постигнутим SVR у односу на испитанике који нису постигли SVR ($1288,74 \pm 337,91$ U/gHb vs $475,90 \pm 99,33$ U/gHb, $z = -4,230$, $p < 0,001$). Активност GPx након терапије је била статистички значајно већа код испитаника са постигнутим SVR у односу на испитанике који нису постигли SVR ($28,72 \pm 5,45$ U/gHb vs $15,52 \pm 1,32$ U/gHb, $t = 40,178$, $p < 0,001$). Активност CAT након терапије је била статистички значајно мања код испитаника који нису у односу на испитанике који су имали постигли SVR ($4,36 \pm 0,29$ U/gHb $\times 10^4$ vs $6,27 \pm 0,81$ U/gHb $\times 10^4$, $t = 11,604$, $p < 0,001$).

Број леукоцита након терапије је био мањи код испитаника који нису постигли SVR у односу на испитанике који су постигли SVR ($6,96 \pm 1,69$ $10^9/L$ vs $7,72 \pm 1,83$ $10^9/L$), али није било статистички значајне разлике ($p = 0,278$). Број неутрофила након терапије је био мањи код испитаника који су постигли SVR у односу на испитанике који нису постигли SVR ($3,77 \pm 1,28$ $10^9/L$ vs $4,57 \pm 0,94$ $10^9/L$), али није било статистички значајне разлике ($p = 0,077$). Број лимфоцита након терапије је био мањи код испитаника који нису у односу на испитанике који су постигли SVR ($2,29 \pm 0,99$ $10^9/L$ vs $2,65 \pm 0,85$ $10^9/L$), али није било статистички значајне разлике ($p = 0,378$) (Табела 13).

Вредност седиментације након терапије се није статистички значајно мењала у односу на исход терапије ($10,00 \pm 6,66$ vs $8,36 \pm 4,74$, $p = 0,636$). Број еритроцита након терапије се није статистички значајно мењао у односу на исход терапије ($4,34 \pm 0,34$ $10^{12}/L$ vs $4,46 \pm 0,42$ $10^{12}/L$, $p = 0,436$). Ниво хемоглобина после терапије се није статистички значајно мењао у односу на исход терапије ($137,14 \pm 11,30$ g/L vs $138,34 \pm 10,65$ g/L, $p = 0,834$). Вредност хематокрита после терапије се, такође, није статистички значајно мењала у односу на исход терапије ($40,96 \pm 3,33\%$ vs $42,02 \pm 4,04\%$, $p = 0,578$). Број тромбоцита после терапије се није статистички значајно мењао у односу на исход терапије ($239,71 \pm 61,79$ $10^9/L$ vs $267,09 \pm 56,35$ $10^9/L$, $p = 0,401$) (Табела 13).

Активност AST после терапије се није статистички значајно мењала у односу на исход терапије ($63,07 \pm 109,85$ U/L vs $23,24 \pm 10,12$ U/L, $p = 0,748$). Такође, активност ALT после терапије се није статистички значајно мењала у односу на исход терапије ($64,93 \pm 101,99$ U/L vs $27,39 \pm 8,90$ U/L, $p = 0,748$). Након терапије није било статистички значајне промене у вредностима укупног билирубина ($p = 0,133$), директног билирубина ($p = 0,495$), активности AF ($p = 0,259$), активности GGT ($p = 0,478$), активности LDH ($p = 0,208$), вредностима триглицерида ($p = 0,908$), као и вредностима холестерола

($p=0,462$). Концентрација hsCRP после терапије је била статистички значајно већа код испитаника који нису постигли у односу на испитанике који су постигли SVR ($4,69\pm 10,72$ mg/L vs $0,37\pm 0,34$ mg/L, $z=-2,431$, $p=0,013$) (Табела 13).

Табела 14. Базичне и посттерапијске активности антиоксидативних ензима и биохемијски параметри евалуације хроничног хепатитиса Ц код пацијената који нису постигли SVR

	Пре терапије	После терапије	p	
SOD (U/gHb)	503,89±87,10	475,90±99,33	-1,014	0,310
GPx (U/gHb)	15,44±0,89	15,52±1,32	0,380	0,717
CAT (U/gHb×10 ⁴)	4,34±0,21	4,36±0,29	0,198	0,850
Леукоцити (10 ⁹ /L)	7,89±1,49	7,72±1,83	-0,676	0,499
Неутрофили (10 ⁹ /L)	4,66±0,81	4,57±0,94	-0,169	0,866
Лимфоцити (10 ⁹ /L)	2,28±0,95	2,29±0,99	-0,254	0,799
Седиментација	9,14±2,34	10,00±6,66	-0,085	0,935
Еритроцити (10 ¹² /L)	4,21±0,57	4,34±0,34	0,677	0,524
Хемоглобин (g/L)	135,14±8,47	137,14±11,30	0,603	0,569
Хематокрит (%)	40,60±4,17	40,96±3,33	0,362	0,729
Тромбоцити (10 ⁹ /L)	258,00±72,85	239,71±61,79	-0,931	0,352
AST (U/L)	76,57±73,85	63,07±109,85	-1,183	0,237
ALT (U/L)	94,37±70,43	64,93±101,99	-1,690	0,091
Укупни билирубин (umol/L)	11,16±7,88	12,10±11,08	0,756	0,478
Директни билирубин (umol/L)	2,34±1,07	2,28±1,29	-0,254	0,799
AF (U/L)	52,64±12,09	54,16±18,45	-0,169	0,866
GGT (U/L)	41,70±34,34	39,46±43,66	-0,507	0,612
LDH (U/L)	332,15±54,37	351,82±76,42	-1,352	0,176
Триглицериди (mmol/L)	1,32±0,43	1,56±0,84	-0,507	0,612
Холестерол (mmol/L)	4,23±0,93	3,98±1,08	-1,632	0,173
hcCRP (mg/L)	5,89±12,88	4,69±10,72	-1,183	0,237
Албумин (g/L)	39,18±5,83	40,27±5,19	-1,183	0,237

Табеларно су приказане вредности испитиваних параметара (антиоксидативни ензими, крвне слике, функције јетре, запаљења) који нису постигли SVR . Активност SOD је била мања након деловања терапије ($503,89\pm 87,10$ U/gHb vs $475,90\pm 99,33$

U/gHb), али није било статистички значајне разлике ($p=0,310$). Активност GPx се није статистички значајно мењала у односу на деловање терапије у овој групи испитаника ($15,44\pm 0,89$ U/gHb vs $15,52\pm 1,32$ U/gHb, $p=0,717$). Активности CAT се није статистички значајно мењала након у односу на пре деловања терапије ($4,34\pm 0,21$ U/gHb $\times 10^4$ vs $4,36\pm 0,29$ U/gHb $\times 10^4$, $p=0,850$). Анализа података је показала да није дошло до статистички значајне промене ни једног од испитиваних параметара током примењиване терапије код испитаника који нису постигли SVR (Табела 14).

Табела 15. Базичне и посттерапијске активности антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц код испитаника који су постигли SVR

	Пре терапије	После терапије		p
SOD (U/gHb)	975,73 \pm 297,92	1288,74 \pm 337,91	-5,905	<0,001
GPx (U/gHb)	23,56 \pm 4,31	28,72 \pm 5,45	26,467	<0,001
CAT (U/gHb $\times 10^4$)	5,24 \pm 0,82	6,27 \pm 0,81	27,977	<0,001
Леукоцити ($10^9/L$)	7,02 \pm 1,22	6,96 \pm 1,69	-1,462	0,144
Неутрофили ($10^9/L$)	3,63 \pm 0,99	3,77 \pm 1,28	-0,717	0,473
Лимфоцити ($10^9/L$)	2,56 \pm 0,83	2,65 \pm 0,85	-0,282	0,778
Седиментација	9,57 \pm 4,41	8,36 \pm 4,74	1,390	0,172
Еритроцити ($10^{12}/L$)	4,42 \pm 0,40	4,46 \pm 0,42	0,727	0,471
Хемоглобин (g/L)	137,13 \pm 8,18	138,34 \pm 10,65	1,003	0,321
Хематокрит (%)	41,65 \pm 3,89	42,02 \pm 4,04	0,757	0,453
Тромбоцити ($10^9/L$)	266,59 \pm 636,09	267,09 \pm 56,35	-0,863	0,388
AST (U/L)	65,06 \pm 39,03	23,24 \pm 10,12	-5,905	<0,001
ALT (U/L)	84,40 \pm 36,58	27,39 \pm 8,90	-5,905	<0,001
Укупни билирубин (umol/L)	12,71 \pm 9,21	11,25 \pm 6,86	-1,956	0,050
Директни билирубин (umol/L)	2,89 \pm 2,22	2,85 \pm 2,24	-2,898	0,004
AF (U/L)	66,15 \pm 24,08	62,58 \pm 17,57	-1,748	0,080
GGT (U/L)	44,43 \pm 40,92	25,67 \pm 12,28	-4,261	<0,001
LDH (U/L)	340,89 \pm 51,64	328,87 \pm 53,58	-1,062	0,288
Триглицериди (mmol/L)	1,31 \pm 0,36	1,35 \pm 0,57	-0,098	0,922
Холестерол (mmol/L)	4,08 \pm 0,75	4,12 \pm 0,79	-0,453	0,650
hcCRP (mg/L)	0,66 \pm 0,86	0,37 \pm 0,34	-3,601	<0,001
Албумин (g/L)	43,67 \pm 6,08	44,06 \pm 4,82	-0,683	0,495

На табели 15 су приказане вредности параметара мерених након терапије (антиоксидативни ензими, крвне слике, функције јетре, запаљења) код испитаника који су постигли SVR (Табела 12). Активност SOD након терапије је била статистички значајно већа у односу на период пре терапије у овој групи испитаника ($975,73 \pm 297,92$ U/gHb vs $1288,74 \pm 337,91$ U/gHb, $z = -5,905$, $p < 0,001$). Активност GPx је статистички значајно већа након терапије у односу на период пре терапије ($23,56 \pm 4,31$ U/gHb vs $28,72 \pm 5,45$ U/gHb, $t = 26,467$, $p < 0,001$). Активност CAT након терапије је била статистички значајно већа у односу на период пре деловања терапије ($5,24 \pm 0,82$ U/gHb $\times 10^4$ vs $6,27 \pm 0,81$ U/gHb $\times 10^4$, $t = 27,977$, $p < 0,001$).

Анализа података је показала да није било статистички значајне разлике у броју леукоцита ($p = 0,144$), броју неутрофила ($p = 0,473$), броју лимфоцита ($p = 0,778$), вредности седиментације ($p = 0,172$), броју еритроцита ($p = 0,471$), нивоу хемоглобина ($p = 0,321$), вредности хематокрита ($p = 0,453$) и броју тромбоцита ($p = 0,388$) након терапије у односу на период пре терапије код испитаника са негативним исходом (Табела 15).

Активност AST након терапије је била статистички значајно мања у односу на период пре деловања терапије у овој групи испитаника ($65,06 \pm 39,03$ U/L vs $23,24 \pm 10,12$ U/L, $z = -5,905$, $p < 0,001$). Активност ALT након терапије је била статистички значајно мања у односу мерења пре терапије ($84,40 \pm 36,58$ U/L vs $27,39 \pm 8,90$ U/L, $z = -5,905$, $p < 0,001$). Концентрација укупног билирубина мерена након терапије је била статистички значајно мања у односу на мерење пре терапије ($12,71 \pm 9,21$ $\mu\text{mol/L}$ vs $11,25 \pm 6,86$ $\mu\text{mol/L}$, $z = -1,956$, $p = 0,050$). Концентрација директног билирубина је статистички значајно промењена током терапије ($2,89 \pm 2,22$ $\mu\text{mol/L}$ vs $2,85 \pm 2,24$ $\mu\text{mol/L}$, $z = -2,898$, $p < 0,001$). Такође, је дошло до статистички значајног смањења активности GGT током примењиване терапије ($44,43 \pm 40,92$ U/L vs $25,67 \pm 12,28$ U/L, $z = -4,261$, $p < 0,001$). Није било статистички значајне промене у вредностима следећих параметара: активност AF ($p = 0,080$), LDH ($p = 0,288$), концентрацији триглицерида ($p = 0,922$) и вредности холестерола ($p = 0,650$). Концентрација hsCRP се статистички значајно променила током терапије ($0,66 \pm 0,86$ mg/L vs $0,37 \pm 0,34$ mg/L, $z = -3,601$, $p < 0,001$) (Табела 15).

Табела 16. Промена активности антиоксидативних ензима у односу на исход терапије

	Постигнут SVR n=7	Није постигнут SVR n=46	p
Промена SOD (U/gHb)	331,07±40,19	27,99±12,2	0,172
Промена GPx (U/gHb)	5,01±1,14	0,08±0,43	<0,001
Промена CAT (U/gHb×10 ⁴)	1,03±0,01	0,02±0,08	<0,001

Упоређујући промене вредности параметара оксидативног стреса у односу на исход терапије показано је да не постоји статистички значајна разлика у промени активности SOD у односу на исход терапије ($p=0,172$). Промена активности GPx је била статистички значајно већа код испитаника који нису постигли SVR ($p<0,001$). Такође је, и промена вредности CAT била статистички значајно већа код испитаника који нису постигли SVR ($p<0,001$) (Табела 16).

Дужина болести код пацијената са ХХЦ који су постигли SVR била је $8,12\pm 3,53$ година, а код оболелих који нису постигли SVR износила је $9,14\pm 4,22$ година. Није било статистички значајне разлике у дужини болести у односу на исход терапије ($p=0,500$). У односу на дужину болести оболели од ХХЦ су подељени на две групе према медијани дужине болести која је у овом случају била 7 година. Дакле, оболели су подељени на оне чија је дужина болести била мања од 7 година и на оне чија је дужина болести била већа од 7 година. Анализирајући параметре оксидативног стреса показано је да не постоји статистички значајна разлика у активности SOD пре терапије у односу на дужину болести ($p=0,655$). Такође, и активности GPx пре терапије се статистички значајно не разликује у односу на дужину болести ($p=0,985$). Не постоји статистички значајна разлика у активности CAT пре терапије у односу на дужину болести ($p=0,801$) (Табела 17).

Табела 17. Базична активност антиоксидативних ензима оболелих од хроничног хепатитиса Ц у односу на трајање болести

	Трајање болести		
	<7 година	>7 година	p
SOD (U/gHb)	914,22 ±333,09	949,94 ±320,78	0,655
GPx (U/gHb)	22,59 ±4,65	22,84 ±5,32	0,985
CAT (U/gHb×10 ⁴)	5,18 ±0,76	5,18 ±0,88	0,801

5.5. Резултати анализе базичних и посттерапијских активности антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на генотип вируса хепатитиса Ц

5.5.1. Испитивање демографских и хистолошких карактеристика у односу на генотип вируса хепатитиса Ц

Табела 18. Демографске и хистолошке карактеристике испитаника оболелих од хроничног хепатитиса Ц у односу на генотип

		Генотип				p
		1 n=27	2 n=2	3 n=20	4 n=4	
Старост (године)		42,11±9,24	46,00±12,73	34,15±8,44	43,50±10,72	0,013*
Пол	Мушки	15 (55,6)	2 (100)	15 (75,0)	3 (75,0)	0,360
	Женски	12 (44,4)	-	5 (25,0)	1 (25,0)	
NAI						
Степен фиброзе	1	9 (33,3)	1 (50,0)	10 (50,0)	1 (25,0)	0,521
	2	12 (44,4)	-	8 (40,0)	2 (50,0)	
	3	3 (11,1)	1 (50,0)	1 (5,0)	-	
	4	3 (11,1)	-	1 (5,0)	1 (25,0)	

*post hoc анализа није могућа јер у групи са генотипом 2 и 4 има 2, односно, 4 испитаника..

На табели 18 су приказани подаци у односу на генотип. Пацијенти са генотипом 2 су били најстарији, а пацијенти са генотипом 3 најмлађи. Cruscal-Walisovim тестом је утврђено да постоји статистички значајна разлика у старости у односу на генотип ($p=0,013$). Post hoc анализа није била могућа због малог броја испитаника у групама са генотипом 2 и 4. Показано је да не постоји статистички значајна разлика у полу у односу на генотип ХЦВ ($p=0,360$). Такође, не постоји статистички значајна разлика у степену фиброзе у односу на генотип.

За даљу анализу и тумачење резултата, спојени су испитаници са генотипом 1 и 4 у једну групу, а у другу групу су спојени испитаници са генотипом 2 и 3, адекватно дужини трајања терапије и најчешћем начину упоређивања генотипова у модерној научној литератури.

Табела 19. Демографске и хистолошке карактеристике испитаника оболелих од хроничног хепатитиса Ц у односу на генотип 1 и 4 и генотип 2 и 3

		Генотип		p
		1 и 4 n=31	2 и 3 n=22	
Старост (године)		42,29±9,26	35,23±9,18	0,009
Пол	Мушки	18 (58,1)	17(77,3)	0,246
	Женски	13 (41,9)	5 (22,7)	
НАИ		3,42 ±1,84	2,41 ±1,33	0,043
Фиброза	1	10(32,3)	11(50,0)	0,513
	2	14 (45,2)	8 (36,4)	
	3	3 (9,7)	2 (9,1)	
	4	4 (12,9)	1 (4,5)	
Присуство стеатозе		6 (19,4)	1 (4,5)	0,218
Трајање болести (године)		8,90 ±3,74	7,38 ±3,29	0,286

Испитаници који су имали генотип 1 или генотип 4 били су статистички значајно старији у односу на испитанике који су имали генотип 2 или 3 (42,29±9,26 година vs 35,23±9,18 година, $t=2,750$, $p=0,009$). Према полу није било статистички значајне разлике у односу на присуство различитих генотипова ($p=0,264$). Просечан

ХАИ скор био је статистички значајно већи код оболелих са генотипом 1 или 4 у односу на оболеле са генотипом 2 или 3 ($3,42 \pm 1,84$ vs $2,41 \pm 1,33$, $z=-2,024$, $p=0,043$). Анализом дистрибуције степена фиброзе утврђено је да не постоји статистички значајна повезаност са генотипом ХЦВ ($p=0,513$). Присуство стеатозе није статистички значајно повезано са генотипом ХЦВ ($p=0,218$). Трајање болести је било дуже код оболелих од хепатитиса Ц генотипом 1 или 4 у односу на оболеле са генотипом 2 или 3, али није било статистички значајне разлике ($p=0,286$) (Табела 19).

5.5.2. Испитивање базичних и посттерапијских активности антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц код групе испитаника са генотипом 1 и генотипом 4 вируса хепатитиса Ц и групе испитаника са генотипом 2 И генотипом 3 вируса хепатитиса Ц

На табели 20 су приказани испитивани параметри (антиоксидативни ензими, крвне слике, функције јетре, запаљења) пре и после терапије код испитаника који имају генотип 1 и генотип 4. Wilcoxonovim тестом је показано да постоји статистички значајна промена у активности SOD у периоду после у односу на период пре терапије код испитаника са генотипом 1 и генотипом 4 ($801,23 \pm 276,15$ U/gHb vs $1016,44 \pm 396,59$ U/gHb, $z=-4,350$, $p<0,001$). Активности GPx се статистички значајно променила током терапије у овој групи испитаника ($20,91 \pm 4,73$ U/gHb vs $24,65 \pm 6,76$ U/gHb, $t=8,825$, $p<0,001$). Активност САТ је, такође, статистички значајно промењена током деловања терапије ($4,95 \pm 0,78$ U/gHb $\times 10^4$ vs $5,72 \pm 1,01$ U/gHb $\times 10^4$, $t=9,257$, $p<0,001$).

Током примене терапије у овој групи испитаника није дошло до статистички значајне промене у броју леукоцита ($p=0,203$), броју лимфоцита ($p=0,480$), броју неутрофила ($p=0,791$), вредности седиментације ($p=0,574$), броју еритроцита ($p=0,608$), нивоу хемоглобина ($p=0,310$), хематокриту ($p=0,098$), као и у броју тромбоцита ($p=0,487$) (Табела 20).

Табела 20. Базична и посттерапијска активност антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц код испитаника са генотипом 1 и генотипом 4 (n=31)

	Пре терапије	После терапије		р
SOD (U/gHb)	801,23±276,15	1016,44±396,59	-4,350	<0,001
GPx (U/gHb)	20,91±4,73	24,65±6,76	8,825	<0,001
CAT (U/gHb×10 ⁴)	4,95±0,78	5,72±1,01	9,257	<0,001
Леукоцити (10 ⁹ /L)	7,12±0,12	6,96±1,53	-1,274	0,203
Неутрофили (10 ⁹ /L)	3,88±1,15	4,07±1,25	-0,265	0,791
Лимфоцити (10 ⁹ /L)	2,36±0,76	2,51±0,87	-0,706	0,480
Седиментација	9,65±3,44	9,48±5,51	-0,562	0,574
Еритроцити (10 ¹² /L)	4,36±0,42	4,39±0,40	0,518	0,608
Хемоглобин (g/L)	135,58±7,69	136,81±10,57	1,033	0,310
Хематокрит (%)	40,49±2,94	41,06±3,08	1,705	0,098
Тромбоцити (10 ⁹ /L)	260,71±64,11	255,19±59,12	-0,696	0,487
AST (U/L)	71,17±54,23	31,88±52,89	-4,311	<0,001
ALT (U/L)	88,35±50,29	34,88±49,30	-4,566	<0,001
Укупни билирубин (umol/L)	13,48±11,02	12,27±9,25	-2,137	0,033
Директни билирубин (umol/L)	3,21±2,60	2,90±2,07	-2,011	0,044
AF (U/L)	65,09±25,67	58,41±18,27	-2,146	0,032
GGT (U/L)	40,54±40,38	26,19±23,21	-2,254	0,024
LDH (U/L)	339,43±51,79	340,54±59,48	-0,339	0,734
Триглицериди (mmol/L)	1,29±0,36	1,35±0,49	-0,029	0,977
Холестерол (mmol/L)	4,20±0,82	4,07±0,79	-1,392	0,164
hcCRP (mg/L)	1,89±6,23	1,37±5,14	-2,686	0,007
Албумин (g/L)	41,96±6,70	42,70±5,36	-0,647	0,518

Активност AST је статистички значајно смањена током примене терапије (71,17±54,23 U/L vs 31,88±52,89 U/L, $z=-4,311$, $p<0,001$). Активност ALT је статистички значајно смањена током терапије у овој групи испитаника (88,35±50,29 U/L vs 34,88±49,30 U/L, $z=-4,566$, $p<0,001$). Вредности укупног билирубина биле су статистички значајно мање након у односу на период пре терапије (13,48±11,02 umol/L

vs $12,27 \pm 9,25$ $\mu\text{mol/L}$, $z = -2,137$, $p = 0,033$). Концентрација директног билирубина била је статистички значајно мања после терапије у односу на период пре примене терапије ($3,21 \pm 2,60$ $\mu\text{mol/L}$ vs $2,90 \pm 2,07$ $\mu\text{mol/L}$, $z = -2,011$, $p = 0,044$). Активност АФ је била статистички значајно мања након терапије ($65,09 \pm 25,67$ $\mu\text{mol/L}$ vs $58,41 \pm 18,27$ $\mu\text{mol/L}$, $z = -2,146$, $p = 0,032$). Активност GGT је, такође, статистички значајно промењена током деловања терапије ($40,54 \pm 40,38$ U/L vs $26,19 \pm 23,21$ U/L, $z = -2,254$, $p = 0,024$). Није било статистички значајне промене у вредностима LDH ($p = 0,734$), концентрацији триглицерида ($p = 0,977$), концентрацији холестерола ($p = 0,164$), као и концентрацији албумина ($p = 0,518$) после у односу на период пре терапије у овој групи испитаника. Концентрација hsCRP је статистички значајно смањена током примене терапије код испитаника који су имали генотип 1 или генотип 4 ($1,89 \pm 6,23$ mg/L vs $1,37 \pm 5,14$ mg/L, $z = -2,686$, $p = 0,007$) (Табела 20).

Табела 21. Базична и посттерапијска активност антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц код испитаника са генотипом 2 и генотипом 3 (n=22)

	Пре терапије	После терапије		р
SOD (U/gHb)	1071,41±321,06	1393,21±340,83	-4,107	<0,001
GPx (U/gHb)	24,72±4,26	30,06±5,30	21,574	<0,001
CAT (U/gHb×10 ⁴)	5,37±0,85	6,41±0,86	17,262	<0,001
Леукоцити (10 ⁹ /L)	7,16±1,39	7,18±1,96	-1,026	0,305
Неутрофили (10 ⁹ /L)	3,60±0,84	3,59±1,26	-1,565	0,118
Лимфоцити (10 ⁹ /L)	2,75±0,92	2,73±0,87	-0,887	0,375
Седиментација	9,32±5,13	7,43±3,87	-1,115	0,265
Еритроцити (10 ¹² /L)	4,44±0,45	4,51±0,41	0,866	0,396
Хемоглобин (g/L)	138,68±8,64	139,68±10,34	0,617	0,544
Хематокрит (%)	42,96±4,66	42,90±4,63	0,084	0,934
Тромбоцити (10 ⁹ /L)	272,14±64,15	264,73±62,35	-1,039	0,299
AST (U/L)	60,11±24,17	24,07±9,03	-4,107	<0,001
ALT (U/L)	82,00±26,00	29,02±6,94	-4,107	<0,001
Укупни билирубин (umol/L)	10,09±4,38	9,77±2,60	-0,471	0,638
Директни билирубин (umol/L)	2,27±0,91	2,60±2,26	-1,855	0,064
AF (U/L)	63,35±19,86	63,82±17,16	-0,081	0,935
GGT (U/L)	49,05±39,42	29,82±11,83	-3,669	<0,001
LDH (U/L)	340,07±52,48	321,95±52,22	-1,373	0,170
Триглицериди (mmol/L)	1,34±0,38	1,42±0,74	-0,064	0,948
Холестерол (mmol/L)	3,97±0,68	4,15±0,87	-0,471	0,638
hcCRP (mg/L)	0,60±0,65	0,36±0,28	-2,551	0,011
Албумин (g/L)	44,66±5,11	44,78±4,23	-0,633	0,527

На табели 21 су приказани испитивани параметри (антиоксидативни ензими, крвне слике, функције јетре, запаљења) пре и после терапије код испитаника који имају генотип 2 и генотип 3. Wilcoxonovim тестом је показано да постоји статистички значајна промене у активности SOD у периоду после у односу на период пре терапије код испитаника са генотипом 2 и генотипом 3 (1071,41±321,06 U/gHb vs

1393,21±340,83 U/gHb, $z=-4,107$, $p<0,001$). Активност GPx се статистички значајно променила током терапије у овој групи испитаника (24,72±4,26 U/gHb vs 30,06±5,30 U/gHb, $t=21,574$, $p<0,001$). Активност CAT је, такође, статистички значајно промењена током деловања терапије (5,37±0,85 U/gHb $\times 10^4$ vs 6,41±0,86 U/gHb $\times 10^4$, $t=17,262$, $p<0,001$).

Током примене терапије у овој групи испитаника није дошло до статистички значајне промене у броју леукоцита ($p=0,305$), броју лимфоцита ($p=0,375$), броју неутрофила ($p=0,118$), вредности седиментације ($p=0,265$), броју еритроцита ($p=0,396$), нивоу хемоглобина ($p=0,544$), хематокриту ($p=0,934$), као и у броју тромбоцита ($p=0,299$) (Табела 21).

Активност AST је статистички значајно смањена током примене терапије (60,11±24,17 U/L vs 24,07±9,03 U/L, $z=-4,107$, $p<0,001$). Активност ALT је статистички значајно смањена током терапије у овој групи испитаника (82,00±26,00 U/L vs 29,02±6,94 U/L, $z=-4,107$, $p<0,001$). Није дошло до статистички значајне промене у вредностима укупног билирубина ($p=0,638$), директног билирубина ($p=0,064$), активност AF ($p=0,935$). Активност GGT је статистички значајно промењена током деловања терапије (49,05±39,42 U/L vs 29,82±11,83 U/L, $z=-3,669$, $p<0,001$). Није било статистички значајне промене у вредностима LDH ($p=0,170$), концентрацији триглицерида ($p=0,948$), концентрацији холестерола ($p=0,638$), као и концентрацији албумина ($p=0,527$) после у односу на период пре терапије у овој групи испитаника. Концентрација hsCRP је статистички значајно смањена током примене терапије код испитаника који су имали генотип 2 или генотип 3 (0,60±0,65 mg/L vs 0,36±0,28 mg/L, $z=-2,551$, $p=0,011$) (Табела 21).

Табела 22 . Базичне активности антиоксидативних ензима и биохемијски параметри евалуације хроничног хепатитиса Ц у групи испитаника са генотипом 1 и генотипом 4 у односу на групу испитаника са генотипом 2 и генотипом 3

	Пре терапије			p
	Генотип 1 и 4 n=31	Генотип 2 и 3 n=22		
SOD (U/gHb)	801,23±276,15	1071,41±321,06	-3,015	0,003
GPx (U/gHb)	20,91±4,73	24,72±4,26	3,060	0,004
CAT (U/gHb×10 ⁴)	4,95±0,78	5,37±0,85	1,868	0,069
Леукоцити (10 ⁹ /L)	7,12±0,12	7,16±1,39	-0,388	0,698
Неутрофили (10 ⁹ /L)	3,88±1,15	3,60±0,84	-1,029	0,303
Лимфоцити (10 ⁹ /L)	2,36±0,76	2,75±0,92	-1,192	0,233
Седиментација	9,65±3,44	9,32±5,13	-0,985	0,325
Еритроцити (10 ¹² /L)	4,36±0,42	4,44±0,45	0,665	0,510
Хемоглобин (g/L)	135,58±7,69	138,68±8,64	1,347	0,185
Хематокрит (%)	40,49±2,94	42,96±4,66	2,201	0,035
Тромбоцити (10 ⁹ /L)	260,71±64,11	272,14±64,15	-0,740	0,459
AST (U/L)	71,17±54,23	60,11±24,17	-0,424	0,671
ALT (U/L)	88,35±50,29	82,00±26,00	-0,668	0,504
Укупни билирубин (umol/L)	13,48±11,02	10,09±4,38	-0,794	0,427
Директни билирубин (umol/L)	3,21±2,60	2,27±0,91	-1,139	0,255
AF (U/L)	65,09±25,67	63,35±19,86	-0,135	0,892
GGT (U/L)	40,54±40,38	49,05±39,42	-2,266	0,023
LDH (U/L)	339,43±51,79	340,07±52,48	-0,306	0,759
Триглицериди (mmol/L)	1,29±0,36	1,34±0,38	-0,298	0,766
Холестерол (mmol/L)	4,20±0,82	3,97±0,68	-0,551	0,582
hcCRP (mg/L)	1,89±6,23	0,60±0,65	-1,011	0,312
Албумин (g/L)	41,96±6,70	44,66±5,11	-1,616	0,106

На табели 22 су упоредно приказане вредности испитиваних параметара (антиоксидативни ензими, крвне слике, функције јетре, запаљења) пре терапије код испитаника који су имали генотип 1 и генотип 4 у односу на испитанике који су имали генотип 2 и генотип 3. Показано је да испитаници са генотипом 1 и 4 имају статистички значајно мање вредности SOD пре терапије у односу на другу групу

испитаника ($801,23 \pm 276,15$ U/gHb vs $1071,41 \pm 321,06$ U/gHb, $z = -3,015$, $p = 0,003$). Активност GPx се такође статистички значајно разликује између ове две групе испитаника ($20,91 \pm 4,73$ U/gHb vs $24,72 \pm 4,26$ U/gHb, $t = 3,060$, $p = 0,004$).

Анализа података је показала да не постоји статистички значајна разлика у следећим параметрима мереним пре терапије између ове две групе испитаника: активности CAT ($p = 0,069$), броју леукоцита ($p = 0,698$), броју лимфоцита ($p = 0,233$), седиментацији ($p = 0,325$), броју еритроцита ($p = 0,510$), нивоу хемоглобина ($p = 0,185$). Вредности хематокрита се статистички значајно разликују између ове две групе испитаника ($40,49 \pm 2,94$ % vs $42,96 \pm 4,66$ %, $t = 2,201$, $p = 0,035$). Није било статистички значајне разлике у следећим параметрима међу испитиваним групама пре деловања терапије: броју тромбоцита ($p = 0,459$), активности AST ($p = 0,671$), активности ALT ($p = 0,504$), вредностима укупног билирубина ($p = 0,427$), вредностима директног билирубина ($p = 0,255$), вредностима АФ ($p = 0,892$), LDH ($p = 0,759$), концентрацији триглицерида ($p = 0,766$), концентрацији холестерола ($p = 0,582$), концентрацији hsCRP ($p = 0,312$), као и концентрацији албумина ($p = 0,106$). Показано је да постоји статистички значајна разлика у активности GGT пре терапије међу испитиваним групама ($40,54 \pm 40,38$ U/L vs $49,05 \pm 39,42$ U/L, $z = -2,266$, $p = 0,023$) (Табела 22).

Табела 23. Посттерапијске активности антиоксидативних ензима и биохемијски параметри евалуације хроничног хепатитиса Ц у групи испитаника са генотипом 1 и генотипом 4 у односу на групу испитаника са генотипом 2 и генотипом 3

	После терапије		Р
	Генотип 1 и 4 n=31	Генотип 2 и 3 n=22	
SOD (U/gHb)	1016,44±396,59	1393,21±340,83	-2,942 0,003
GPx (U/gHb)	24,65±6,76	30,06±5,30	3,260 0,002
CAT (U/gHb×10 ⁴)	5,72±1,01	6,41±0,86	2,686 0,010
Леукоцити (10 ⁹ /L)	6,96±1,53	7,18±1,96	-0,550 0,582
Неутрофили (10 ⁹ /L)	4,07±1,25	3,59±1,26	-1,464 0,143
Лимфоцити (10 ⁹ /L)	2,51±0,87	2,73±0,87	-0,867 0,386
Седиментација	9,48±5,51	7,43±3,87	-1,301 0,193
Еритроцити (10 ¹² /L)	4,39±0,40	4,51±0,41	1,092 0,281
Хемоглобин (g/L)	136,81±10,57	139,68±10,34	1,622 0,114
Хематокрит (%)	41,06±3,08	42,90±4,63	0,988 0,328
Тромбоцити (10 ⁹ /L)	255,19±59,12	264,73±62,35	-0,641 0,522
AST (U/L)	31,88±52,89	24,07±9,03	-0,704 0,481
ALT (U/L)	34,88±49,30	29,02±6,94	-1,435 0,151
Укупни билирубин (umol/L)	12,27±9,25	9,77±2,60	-0,533 0,594
Директни билирубин (umol/L)	2,90±2,07	2,60±2,26	-0,941 0,347
AF (U/L)	58,41±18,27	63,82±17,16	-1,192 0,233
GGT (U/L)	26,19±23,21	29,82±11,83	-1,869 0,062
LDH (U/L)	340,54±59,48	321,95±52,22	-1,263 0,206
Триглицериди (mmol/L)	1,35±0,49	1,42±0,74	-0,280 0,779
Холестерол (mmol/L)	4,07±0,79	4,15±0,87	-0,009 0,993
hcCRP (mg/L)	1,37±5,14	0,36±0,28	-0,641 0,522
Албумин (g/L)	42,70±5,36	44,78±4,23	-1,345 0,179

На Табели 23 су приказане вредности испитиваних параметара мерених након терапије код испитаника који су подељени у две групе: једну групу чине испитаници који су имали генотип 1 и генотип 4, а другу групу су формирали испитаници који су имали генотип 2 и генотип 3. Активности SOD после терапије се статистички значајно

разликује између испитиваних група (1016,44±396,59 U/gHb vs 1393,21±340,83 U/gHb, $z=-2,942$, $p=0,003$). Активности GPx после терапије се статистички значајно разликује између испитиваних група (24,65±6,76 U/gHb vs 30,06±5,30 U/gHb, $t=3,260$, $p=0,002$). Активност CAT после терапије, такође, се статистички значајно разликује између испитиваних група (5,72±1,01 U/gHbx10⁴ vs 6,41±0,86 U/gHbx10⁴, $t=2,686$, $p=0,010$). Упоредивањем вредности између испитиваних група показано је да не постоји статистички значајна разлика у вредностима следећих параметара мерених после терапије: броју леукоцита ($p=0,582$), броју неутрофила ($p=0,143$), броју лимфоцита ($p=0,386$), вредностима седиментације ($p=0,193$), броју еритроцита ($p=0,281$), нивоу хемоглобина ($p=0,114$), хематокриту ($p=0,328$), броју тромбоцита ($p=0,522$), активности AST ($p=0,481$), активности ALT ($p=0,151$), укупног билирубина ($p=0,594$), вредности директног билирубина ($p=0,347$), активности AF ($p=0,233$), активности GGT ($p=0,062$), активности LDH ($p=0,206$), концентрацији триглицерида ($p=0,779$), концентрацији холестерола ($p=0,993$), концентрацији hsCRP ($p=0,522$), као и концентрацији албумина ($p=0,179$) (Табела 23).

Табела 24. Промена активности антиоксидативних ензима после терапије у односу на генотип

	Генотип 1 i 4 n=31	Генотип 2 i 3 n=22	p
Промена SOD (U/gHb)	215,02±120,01	322,07±309,01	0,745
Промена GPx (U/gHb)	3,74±0,47	5,34±1,04	0,907
Промена CAT (U/gHbx10 ⁴)	0,77±0,23	1,04±0,01	0,304

Упоредивајући вредности антиоксидативних ензима после и пре терапије у односу на генотип утврђено је да не постоји статистички значајна разлика у промени активности SOD ($p=0,745$), активности GPx ($p=0,907$), као и активности CAT ($p=0,304$) (Табела 24).

Табела 25. Генотипови и исход терапије

	Пре терапије		После терапије	
	Постигнут SVR	Непостигнут SVR	Постигнут SVR	Непостигнут SVR
Генотипови 1 и 4	n = 24	n = 7	n = 24	n = 7
SOD (U/gHb)	887.96 ± 250.47 ^{*,**}	503.89 ± 87.10	1212.80 ± 326.39	608.76 ± 140.17
GPx (U/gHb)	22.51 ± 4.15 ^{*,**}	15.44 ± 0.89	27.31 ± 5.15	15.52 ± 1.32
CAT (U/gHbx10 ⁴)	5.13 ± 0.79 ^{*,**}	4.34 ± 0.21	6.11 ± 0.75	4.36 ± 0.30
Генотипови 2 и 3	n = 22	n = 0	n = 22	n = 0
SOD (U/gHb)	1071.49 ± 321.06 ^{**,***}		1393.20 ± 340.83 ^{****}	
GPx (U/gHb)	24.72 ± 4.27 ^{**,***}		30.06 ± 5.30 ^{****}	
CAT (U/gHbx10 ⁴)	5.37 ± 0.85 ^{**}		6.40 ± 0.86	

На Табели 25 је приказано да група пацијената са генотипом 1 и 4 има ниже нивое SVR. Група пацијената са генотиповима 2 и 3 показала је статистички значајно повећање у активностима SOD and GPx како базичних тако и посттерапијских у односу на групу пацијената са генотиповима 1 и 4 ($p < 0.05$). Није било статистички значајне разлике између претходно поменутих група, било пре било после терапије (* р

< 0.05 – разлика између пацијената са постигнутим и непостигнутим SVR пре терапије у оквиру једне групе генотипова; ** $p < 0.05$ – разлика између пацијената са постигнутим SVR пре терапије и после терапије у оквиру једне групе генотипова; *** $p < 0.05$ – разлика између пацијената са постигнутим SVR пре терапије упоређујући две групе генотипова; **** $p < 0.05$ – разлика између пацијената са постигнутим SVR после терапије упоређујући две групе генотипова).

5.6. Резултати анализе активности антиоксидативних ензима и параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на степен фиброзе јетре

5.6.1. Испитивање демографских, хистолошких карактеристика, базичних и посттераписјких активности антиоксидативних ензима у односу на степен фиброзе јетре

Табела 26. НАИ скор у односу на степен фиброзе код оболелих од хепатитиса Ц

	N	\bar{X}	SD	Min	Max
Степен фиброзе 1	21	3,24	1,73	1	7
Степен фиброзе 2	22	3,00	1,90	1	7
Степен фиброзе 3	5	2,20	1,03	1	4
Степен фиброзе 4	5	2,80	1,30	2	5

На Табели 26 прикаано је да нема статистички значајне разлике у НАИ између група пацијената подељених на основу степена фиброзе, од првог до четвртог (цирозе).

Табела 27. Упоредње демографских карактеристика и активности антиоксидативних ензима између група пацијената са хроничним хепатитисом Ц у односу на степен фиброзе

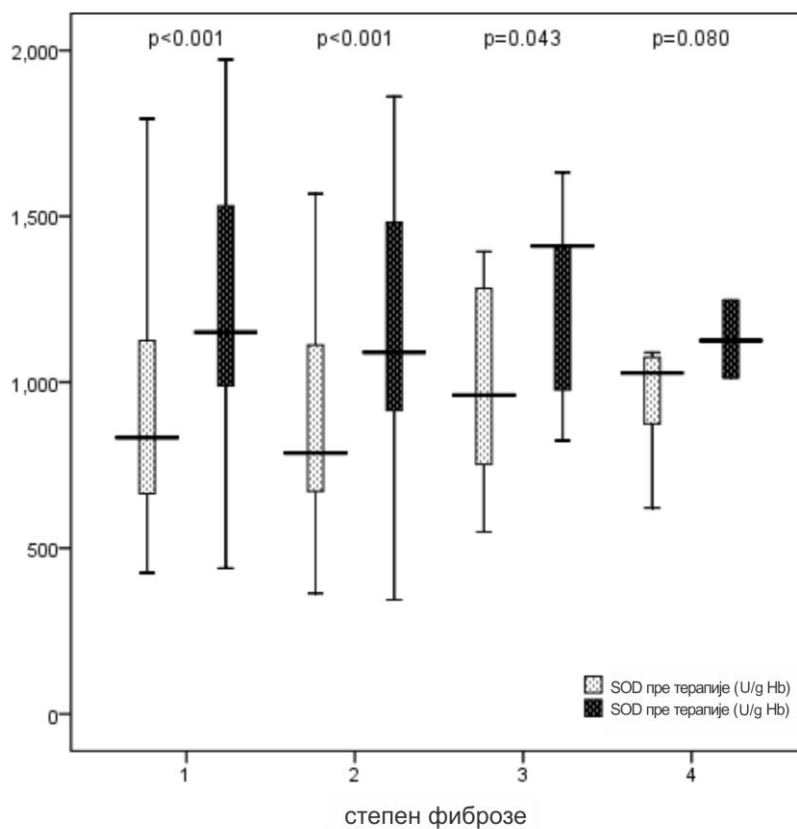
	Степен фиброзе				p
	1 n=21	2 n=22	3 n=5	4 n=5	
Старост (године)	33,86±7,28	38,68±6,63	52,20±7,39	52,60±10,43	<0,001
Пол (Мушки/ Женски)	16/5	15/7	3/2	1/4	0,132
SOD пре терапије (U/gHb)	944,66±365,75	861,11±305,27	987,72±353,62	937,66±196,22	0,802
SOD после терапије (U/gHb)	1212,33±435,08	1127,87±439,23	1251,28±337,24	1126,36±378,73	0,919
GPx пре терапије (U/gHb)	22,80±4,97	21,61±4,52	23,85±5,79	23,73±6,06	0,715
GPx после терапије (U/gHb)	27,34±6,64	25,78±6,40	28,64±7,09	28,19±9,23	0,818
CAT пре терапије (U/gHb x10 ⁴)	5,20±0,85	4,97±0,82	5,44±0,81	5,16±0,91	0,660
CAT после терапије (U/gHbx10 ⁴)	6,12±1,02	5,79±0,96	6,40±0,73	6,01±1,35	0,553
Промена SOD (U/gHb)	0,29±0,26	0,30±0,21	0,34±0,21	0,51±0,19	0,256
Промена GPx (U/gHbx10 ⁴)	0,60±0,20	0,59±0,16	0,62±0,20	0,66±0,21	0,879
Промена CAT (U/gHbx10 ⁴)	0,35±0,22	0,36±0,24	0,28±0,13	0,47±0,32	0,585

На Табели 27 су приказани испитивани параметри у односу на степен фиброзе. Постоји статистички значајна разлика у старости испитаника у односу на степен фиброзе ($F=14,54$, $p<0,001$). Post hoc анализом је утврђено да постоји статистички значајна разлика у старости између испитаника са степеном фиброзе 1 у односу на испитанике са степеном фиброзе 4 ($p<0,001$) и испитаника са степеном фиброзе 2 у односу на испитанике са степеном фиброзе 4 ($p<0,001$). Није било статистички значајне разлике у полу у односу на степен фиброзе ($p=0,132$). Активност SOD пре терапије се није статистички значајно разликовала између група формираних у односу на степен фиброзе ($p=0,802$). Такође, активност SOD након терапије се није статистички значајно разликовала између испитиваних група формираних у односу на степен фиброзе ($p=0,919$). Активност GPx пре терапије се није статистички значајно разликовала у односу на испитиване групе ($p=0,715$), као и активност GPx након терапије ($p=0,818$). Активност CAT пре терапије се не мења статистички значајно у односу на степен фиброзе ($p=0,660$), као и активност CAT после терапије ($p=0,553$).

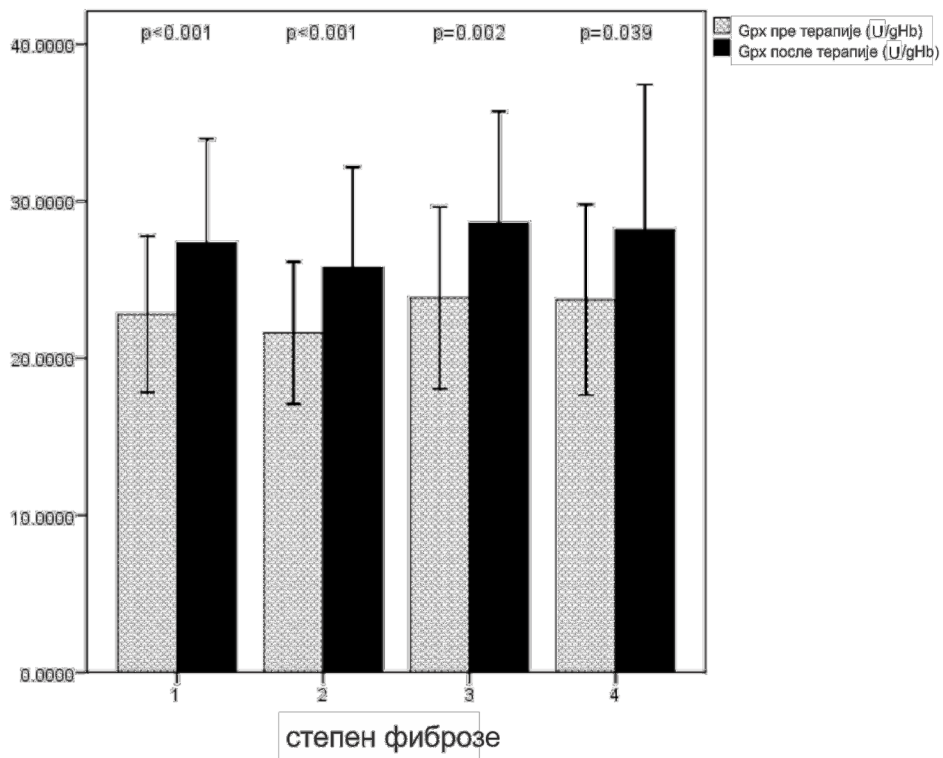
Упоредјујући вредности после у односу на пре терапије у односу на степен фиброзе утврђено је да не постоји статистички значајна разлика у промени активности SOD ($p=0,256$), активности GPx ($p=0,879$), као и активности CAT ($p=0,585$) (Табела 27).

5.6.2. Испитивање базичних и посттерапијских активности антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на степен фиброзе јетре

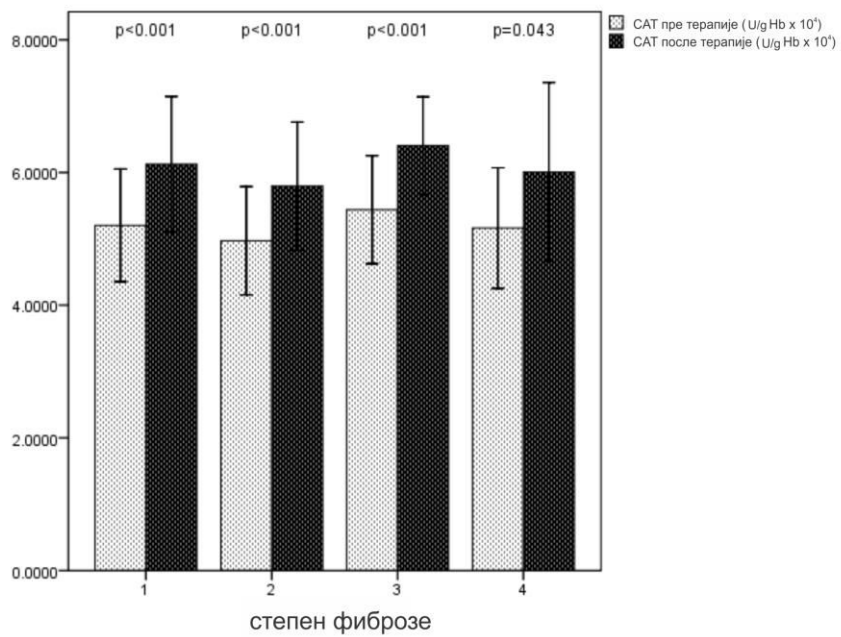
Активности антиоксидативних ензима пре и после терапије код пацијената свих степена фиброзе приказане су на Графикону 10 (SOD), Графикону 11 (GPx) и Графикону 12 (CAT), док су остали испитивани параметри по степенима фиброзе јетре приказани табеларно (табела 28, 29, 30, 31)



Графикон 10. Вредности супероксид дизмутазе пре и после терапије у односу на степен фиброзе



Графикон 11. Активност глутатион пероксидазе пре и после терапије у односу на степен фиброзе



Графикон 12. Активност каталазе пре и после терапије у односу на степен фиброзе

Табела 28. Базичне и посттерапијске вредности биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц код испитаника са степеном фиброзе 1 (n=21)

	Пре терапије	После терапије		р
Леукоцити ($10^9/L$)	7,26±1,29	7,24±1,67	-0,822	0,411
Неутрофили ($10^9/L$)	3,89±0,99	3,81±1,13	-1,214	0,225
Лимфоцити ($10^9/L$)	2,62±0,88	2,68±0,88	-0,654	0,513
Седиментација	9,00±4,90	8,45±4,12	-0,094	0,925
Еритроцити ($10^{12}/L$)	4,53±0,36	4,53±0,39	0,007	0,994
Хемоглобин (g/L)	137,90±6,75	136,43±9,86	1,011	0,324
Хематокрит (%)	41,16±3,10	41,44±2,84	0,279	0,783
Тромбоцити ($10^9/L$)	281,29±51,76	263,67±59,04	-2,086	0,037
AST (U/L)	51,97±16,49	20,02±7,25	-4,107	<0,001
ALT (U/L)	76,91±22,74	26,15±7,35	-4,015	<0,001
Укупни билирубин (umol/L)	9,25±3,42	8,95±2,46	-1,200	0,230
Директни билирубин (umol/L)	2,19±0,99	2,43±2,24	-1,188	0,235
AF (U/L)	6,56±28,73	63,43±19,14	-0,156	0,876
GGT (U/L)	45,12±42,18	28,54±12,67	-2,103	0,035
LDH (U/L)	336,91±47,90	336,18±33,52	-0,187	0,852
Триглицериди (mmol/L)	1,32±0,42	1,44±0,75	-0,348	0,728
Холестерол (mmol/L)	4,05±0,59	4,23±0,92	-0,226	0,821
hcCRP (mg/L)	0,74±0,73	0,40±0,26	-3,024	0,002
Албумин (g/L)	45,49±5,15	45,03±4,25	-0,400	0,689

Код оболелих са хепатитисом Ц и степеном фиброзе 1 утврђено је да постоји статистички значајна разлика у активности SOD пре терапије у односу на вредности након терапије (944,66±365,38 U/gHb vs 1212,33±435,08 U/gHb, $z=-3,980$, $p<0,001$). Такође, је дошло до статистички значајне промене у активности GPx након деловања терапије (22,80±4,97 U/gHb vs 27,34±6,64 U/gHb, $t=10,356$, $p<0,001$). Активност CAT је статистички значајно промењена током деловања терапије (5,20±0,85 U/gHb $\times 10^4$ vs 6,12±1,02 U/gHb $\times 10^4$, $t=10,299$, $p<0,001$) (Табела 28).

Даљом анализом је утврђено да није дошло до статистички значајне промене током деловања терапије у вредностима следећих испитиваних параметара: броју

леукоцита ($p=0,411$), броју неутрофила ($p=0,225$), броју лимфоцита ($p=0,513$), седиментацији ($p=0,925$), броју еритроцита ($p=0,994$), нивоу хемоглобина ($p=0,324$), вредности хематокрита ($p=0,783$) (Табела 28).

Током деловања терапије дошло је до статистички значајне промене у броју тромбоцита код ове групе испитаника ($281,29 \pm 51,76 \text{ } 10^9/\text{L}$ vs $263,67 \pm 59,04 \text{ } 10^9/\text{L}$, $z=-2,086$, $p=0,037$). Активност AST је током деловања терапије статистички значајно промењена ($51,97 \pm 16,49 \text{ U/L}$ vs $20,02 \pm 7,25 \text{ U/L}$, $z=-4,107$, $p<0,001$). Активност ALT је такође, статистички значајно промењена током деловања терапије ($76,91 \pm 22,74 \text{ U/L}$ vs $26,15 \pm 7,35 \text{ U/L}$, $z=-4,015$, $p<0,001$) (Табела 28).

Утврђено је да током терапије није дошло до статистички значајне промене у вредностима следећих параметара: концентрацији укупног билирубина ($p=0,230$), концентрацији директног билирубина ($p=0,235$), активности АФ ($p=0,876$), активности LDH ($p=0,852$), концентрацији триглицерида ($p=0,728$), концентрацији холестерола ($p=0,821$), као и концентрацији албумина ($p=0,689$) (Табела 28).

Активност GGT је статистички значајно промењена током деловања терапије ($45,12 \pm 42,18 \text{ U/L}$ vs $28,54 \pm 12,67 \text{ U/L}$, $z=-2,103$, $p=0,035$). Током деловања терапије, такође је дошло до статистички значајне промене вредности hsCRP ($0,74 \pm 0,73 \text{ mg/L}$ vs $0,40 \pm 0,26 \text{ mg/L}$, $z=-3,024$, $p=0,002$) (Табела 28).

Табела 29. Базичне и посттерапијске вредности биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц код испитаника са степеном фиброзе 2 (n=22)

	Пре терапије	После терапије		р
Леукоцити ($10^9/L$)	7,52±1,05	7,42±1,65	-1,137	0,256
Неутрофили ($10^9/L$)	3,84±1,00	4,16±1,40	-0,146	0,884
Лимфоцити ($10^9/L$)	2,67±0,77	2,81±0,85	-0,081	0,935
Седиментација	9,05±3,12	7,82±4,14	-1,224	0,221
Еритроцити ($10^{12}/L$)	4,37±0,38	4,43±0,39	0,781	0,444
Хемоглобин (g/L)	136,86±9,98	140,77±11,78	2,388	0,026
Хематокрит (%)	42,10±4,88	42,44±5,08	0,671	0,510
Тромбоцити ($10^9/L$)	284,05±48,20	272,82±54,87	-1,023	0,306
AST (U/L)	57,71±18,64	23,78±8,06	-4,107	<0,001
ALT (U/L)	77,11±29,24	27,02±7,98	-4,107	<0,001
Укупни билирубин (umol/L)	10,82±5,30	10,40±2,80	-0,796	0,426
Директни билирубин (umol/L)	2,58±1,06	2,88±2,09	-1,464	0,143
AF (U/L)	65,06±20,40	62,39±17,56	-1,169	0,242
GGT (U/L)	32,49±25,17	20,96±7,67	-3,263	<0,001
LDH (U/L)	337,17±53,73	333,95±68,90	-0,017	0,986
Триглицериди (mmol/L)	1,33±0,34	1,27±0,38	-1,624	0,104
Холестерол (mmol/L)	4,26±0,81	4,12±0,61	-1,169	0,242
hcCRP (mg/L)	0,38±0,23	0,36±0,27	-0,682	0,495
Албумин (g/L)	43,54±5,11	43,68±4,29	-0,032	0,974

На Табели 29 су приказане вредности испитиваних параметара код оболелих од хепатитиса Ц са степеном фиброзе 2. Утврђено је да је дошло до статистички значајне промене током терапије у активности SOD ($861,18 \pm 305,27$ U/gHb vs $1127,87 \pm 439,23$ U/gHb, $z=3,847$, $p<0,001$). Активност GPx је статистички значајно промењена током деловања терапије код ових испитаника ($21,61 \pm 4,52$ U/gHb vs $25,78 \pm 6,41$ U/gHb, $t=9,366$, $p<0,001$). Такође, је дошло до статистички значајне промене у активности CAT током деловања терапије ($4,97 \pm 0,82$ U/gHb $\times 10^4$ vs $5,79 \pm 0,96$ U/gHb $\times 10^4$, $t=9,354$, $p<0,001$).

Током терапије није дошло до статистички значајне промене у вредностима следећих параметара: броју леукоцита ($p=0,256$), броју неутрофила ($p=0,884$), броју лимфоцита ($p=0,935$), седиментацији ($p=0,221$), броју еритроцита ($p=0,444$), хематокриту ($p=0,510$), као и броју тромбоцита ($p=0,306$). Током терапије дошло је до статистички значајне промене у нивоу хемоглобина ($136,86\pm 9,98$ g/L vs $140,77\pm 11,78$ g/L, $t=2,388$, $p=0,026$). Активност AST је статистички значајно смањена током деловања терапије ($57,71\pm 18,64$ U/L vs $23,78\pm 8,06$ U/L, $z=-4,107$, $p<0,001$). Такође је дошло до статистички значајног смањења у активности ALT ($77,11\pm 29,24$ U/L vs $27,02\pm 7,98$ U/L, $z=-4,107$, $p<0,001$)(Табела 29).

Током примене терапије није дошло до статистички значајне промене у вредностима следећих параметара: концентрацији укупног билирубина ($p=0,426$), концентрацији директног билирубина ($p=0,143$), активности АФ ($p=0,242$), активности LDH ($p=0,986$), вредностима триглицерида ($p=0,104$), вредностима холестерола ($p=0,242$), концентрацији hsCRP ($p=0,495$), као и концентрацији албумина ($p=0,974$) код ове групе испитаника. Током примене терапије дошло је до статистички значајног смањења активности GGT ($32,49\pm 25,17$ U/L vs $20,96\pm 7,67$ U/L, $z=-3,263$, $p=0,001$) (Табела 29).

Табела 30. Базичне и посттерапијске вредности биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитис Ц код испитаника са степеном фиброзе 3 (n=5)

	Пре терапије	После терапије	p	
Леукоцити ($10^9/L$)	6,76±1,18	6,69±1,11	-0,405	0,686
Неутрофили ($10^9/L$)	4,09±1,10	4,03±1,21	-0,677	0,498
Лимфоцити ($10^9/L$)	1,82±0,71	1,92±0,22	-0,405	0,686
Седиментација	10,00±2,00	5,40±3,36	-2,032	0,042
Еритроцити ($10^{12}/L$)	4,35±0,71	4,57±0,50	1,304	0,262
Хемоглобин (g/L)	136,40±8,74	137,60±9,81	0,967	0,388
Хематокрит (%)	40,54±3,32	41,64±3,48	1,306	0,261
Тромбоцити ($10^9/L$)	245,60±49,45	265,80±48,05	-0,674	0,500
AST (U/L)	49,50±22,77	18,18±5,07	-2,023	0,043
ALT (U/L)	69,42±18,02	23,20±41,25	-2,032	0,042
Укупни билирубин (umol/L)	14,48±10,87	12,18±5,57	-0,405	0,686
Директни билирубин (umol/L)	3,46±2,15	2,64±1,15	-2,060	0,039
AF (U/L)	64,02±8,08	55,44±15,05	-1,483	0,138
GGT (U/L)	21,28±7,84	17,28±2,49	-1,490	0,136
LDH (U/L)	339,80±30,54	304,70±50,46	-1,214	0,225
Триглицериди (mmol/L)	1,25±0,48	1,43±0,47	-1,214	0,225
Холестерол (mmol/L)	4,23±1,24	4,03±1,23	-1,483	0,138
hcCRP (mg/L)	0,45±0,35	0,16±0,07	-1,214	0,225
Албумин (g/L)	37,86±1,87	42,10±3,53	-2,023	0,043

У табели 30 су приказане вредности испитиваних параметара код оболелих од хепатитиса Ц са степеном фиброзе 3. Утврђено је да постоји статистички значајна разлика у активности СОД током деловања терапије ($987,07 \pm 353,62$ U/gHb vs $1251,28 \pm 337,24$ U/gHb, $z = -2,023$, $p = 0,043$). Током деловања терапије дошло је до статистички значајног повећања активности GPx ($23,85 \pm 5,79$ U/gHb vs $28,64 \pm 7,09$ U/gHb, $t = 6,801$, $p = 0,002$). Такође, је дошло до статистички значајног повећања концентрације САТ током деловања терапије ($5,44 \pm 0,81$ U/gHb $\times 10^4$ vs $6,41 \pm 0,73$ U/gHb $\times 10^4$, $t = 9,998$, $p < 0,001$).

Утврђено је да током примене терапије није дошло до статистички значајне промене у вредностима следећих испитиваних параметара: броју леукоцита ($p=0,686$), броју неутрофила ($p=0,498$), броју лимфоцита ($p=0,686$), броју еритроцита ($p=0,262$), нивоу хемоглобина ($p=0,388$), хематокриту ($p=0,261$), броју тромбоцита ($p=0,500$) (Табела 30).

Вредност седиментације код ове групе испитаника током терапије је статистички значајно смањена ($10,00\pm 2,00$ vs $5,40\pm 3,36$, $z=-2,032$, $p=0,042$). Током терапије је дошло до статистички значајног смањења активности AST ($49,50\pm 22,77$ U/L vs $18,18\pm 5,07$ U/L, $z=-2,023$, $p=0,043$). Такође, је дошло до статистички значајног смањења активности ALT током примене терапије код ових испитаника ($69,42\pm 18,02$ U/L vs $23,20\pm 41,25$ U/L, $z=-2,032$, $p=0,042$). Концентрација директног билирубина је статистички значајно смањена током деловања терапије ($3,46\pm 2,15$ $\mu\text{mol/L}$ vs $2,64\pm 1,15$ $\mu\text{mol/L}$, $z=-2,060$, $p=0,039$) (Табела 30).

Током деловања терапије није дошло до статистички значајне промене у вредностима следећих параметара: концентрацији укупног билирубина ($p=0,686$), активности АФ ($p=0,138$), активности GGT ($p=0,136$), активности LDH ($p=0,225$), концентрацији холестерола ($p=0,138$), као и концентрацији hsCRP ($p=0,225$). Током деловања терапије концентрација албумина је статистички значајно повећана ($37,86\pm 1,87$ g/L vs $42,10\pm 3,53$ g/L, $z=1,214$, $p=0,043$) (Табела 30).

Табела 31. Базичне и посттерапијске вредности биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц код испитаника са степеном фиброзе 4 (n=5)

	Пре терапије	После терапије		p
Леукоцити ($10^9/L$)	5,32±0,55	4,99±1,25	-0,674	0,500
Неутрофили ($10^9/L$)	2,56±0,55	2,69±0,53	-0,944	0,345
Лимфоцити ($10^9/L$)	2,24±0,88	2,02±0,96	-1,214	0,225
Седиментација	13,20±5,68	16,40±6,43	-1,084	0,279
Еритроцити ($10^{12}/L$)	3,97±0,45	4,01±0,09	0,151	0,888
Хемоглобин (g/L)	133,00±3,87	132,80±5,12	0,144	0,893
Хематокрит (%)	39,42±2,46	40,90±1,63	1,256	0,278
Тромбоцити ($10^9/L$)	137,00±22,00	173,40±31,38	-2,023	0,043
AST (U/L)	184,00±51,56	96,62±120,58	-1,735	0,080
ALT (U/L)	176,90±60,91	92,04±114,24	-1,753	0,080
Укупни билирубин (umol/L)	26,40±20,08	23,54±19,32	-1,214	0,225
Директни билирубин (umol/L)	5,88±5,29	3,92±2,75	-1,214	0,225
AF (U/L)	56,54±23,66	46,57±11,23	-1,753	0,080
GGT (U/L)	113,40±30,66	61,58±43,16	-1,753	0,080
LDH (U/L)	361,28±79,35	343,38±86,83	-0,944	0,345
Триглицериди (mmol/L)	1,25±0,19	1,57±0,90	-0,674	0,500
Холестерол (mmol/L)	3,52±0,54	3,54±0,73	-0,405	0,686
hsCRP (mg/L)	9,13±14,55	6,64±12,51	-2,023	0,043
Албумин (g/L)	36,48±10,29	38,38±8,74	-1,355	0,176

У групи испитаника са степеном фиброзе 4 током деловања терапије дошло је до статистички значајне промене активности GPx ($23,73 \pm 6,06$ U/gHb vs $28,19 \pm 9,23$ U/gHb, $t=3,027$, $p=0,039$). Такође, је дошло до статистички значајне промене у активности САТ током деловања терапије ($5,16 \pm 0,91$ U/gHb $\times 10^4$ vs $6,01 \pm 1,35$ U/gHb $\times 10^4$, $t=2,923$, $p=0,043$). Број тромбоцита током терапије је статистички значајно повећан ($137,00 \pm 22,00$ $10^9/L$ vs $173,40 \pm 31,38$ $10^9/L$, $z=-2,023$, $p=0,043$). Концентрације hsCRP је статистички значајно смањена током деловања терапије код ове групе испитаника ($9,13 \pm 14,55$ mg/L vs $6,64 \pm 12,51$ mg/L, $z=-2,023$, $p=0,043$). Вредности

осталих испитиваних параметара током деловања терапије нису се статистички значајно мењале код испитаника са степеном фиброзе 4 (Табела 31).

5.7. Резултати анализе базичних и посттераписјких активности антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на hsCRP

На Табели 32 су приказани резултати у односу на вредности хсЦРП. Оболели од хепатитиса Ц су подељени на оне који су имали hsCRP<1 пре терапије, тј. вредности у границама референтних и на оне који су имали вредности hsCRP>1 пре терапије.

Анализа резултата подељених на основу вредности hsCRP је показала да постоји повезаност између пола и вредности hsCRP ($\chi^2=3,908$, $p=0,031$). Такође, је показано да постоји статистички значајна разлика у броју тромбоцита пре терапије код испитаника са hsCRP <1 у односу на испитанике који су имали hsCRP >1 (276,60±52,66 mg/L vs 222,91±85,21 mg/L, $z=-1,974$, $p=0,048$). Активност ALT је била статистички значајно већа код испитаника који су имали hsCRP >1 у односу на испитанике код којих је hsCRP био у референтним вредностима (120,60±68,14 U/L vs 76,58±25,79 U/L, $z=-2,084$, $p=0,037$). Активност GGT је била статистички значајно већа код испитаника који су имали hsCRP>1 у односу на испитанике из друге групе (74,98±55,88 U/L vs 35,97±30,44 U/L, $z=-2,303$, $p=0,021$). Показано је постоји статистички значајна повезаност појаве стеатозе и вредности hsCRP ($p<0,001$). У групи која је имала вредности hsCRP мање од 1 било 2,4% испитаника са стеатозом, а групи која је имала вредности хсЦРП веће од 1 било је 54,5% испитаника са стеатозом. Анализом осталих испитиваних параметара није утврђена статистички значајна разлика у вредностима пре терапије између ове две испитиване групе (Табела 32).

Табела 32. Базичне активности антиоксидативних ензима и вредности биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на вредност hsCRP.

	hsCRP<1 n=42	hsCRP>1 n=11		p
Старост	38,26±9,26	43,54±11,04	-1,439	0,150
Пол (мушки/женски)	31/11	4/7	3,908	0,031
SOD (U/gHb)	915,41±310,12	905,78±380,57	-0,329	0,742
GPx (U/gHb)	22,37±4,68	22,94±5,81	0,338	0,737
CAT (U/gHb×10 ⁴)	5,13±0,79	5,11±0,98	0,062	0,950
Леукоцити (10 ⁹ /L)	7,23±1,17	6,77±1,64	-1,119	0,263
Неутрофили (10 ⁹ /L)	3,80±1,03	3,63±1,08	-0,417	0,677
Лимфоцити (10 ⁹ /L)	2,56±0,84	2,39±0,84	-0,384	0,701
Седиментација	9,10±2,98	11,09±7,13	-0,388	0,698
Еритроцити (10 ¹² /L)	4,41±0,41	4,33±0,51	0,505	0,621
Хемоглобин (g/L)	137,02±8,49	136,27±7,13	0,298	0,769
Хематокрит (%)	41,49±3,89	41,58±4,18	0,060	0,953
Тромбоцити (10 ⁹ /L)	276,60±52,66	222,91±85,21	-1,974	0,048
AST (U/L)	56,61±21,55	104,44±79,46	-1,448	0,148
ALT (U/L)	76,58±25,79	120,60±68,14	-2,084	0,037
Укупни билирубин (umol/L)	10,66±5,66	17,28±15,83	-0,976	0,329
Директни билирубин (umol/L)	2,54±1,25	3,88±3,89	-0,714	0,475
AF (U/L)	66,56±23,78	56,00±19,82	-1,788	0,074
GGT (U/L)	35,97±30,44	74,98±55,88	-2,303	0,021
LDH (U/L)	340,74±46,64	335,41±71,20	-0,059	0,953
Триглицериди (mmol/L)	1,29±0,31	1,36±0,54	-0,329	0,742
Холестерол (mmol/L)	4,16±0,74	3,91±0,89	-1,053	0,292
hsCRP (mg/L)	43,98±5,45	39,65±7,82	-1,283	0,199
Присуство стеатозе	1 (2,4%)	6 (54,5%)		p<0,001

Табела 33. Посттерапијске активности антиоксидативних ензима и вредности биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на вредност хсЦРП.

	hsCRP<1 n=42	hsCRP>1 n=11		p
SOD (U/gHb)	1182,85±393,99	1134,58±509,920	-0,307	0,759
GPx (U/gHb)	26,89±6,25	26,92±8,60	0,338	0,737
CAT (U/gHb×10 ⁴)	6,01±0,88	5,96±1,43	0,062	0,950
Леукоцити (10 ⁹ /L)	7,15±1,66	6,64±1,88	-0,731	0,465
Неутрофили (10 ⁹ /L)	4,01±1,29	3,32±0,96	-1,405	0,160
Лимфоцити (10 ⁹ /L)	2,64±0,84	2,41±1,00	-0,511	0,609
Седиментација	7,93±4,65	11,70±5,38	-2,260	0,024
Еритроцити (10 ¹² /L)	4,48±0,39	4,29±0,47	0,505	0,621
Хемоглобин (g/L)	139,43±10,83	132,55±6,95	0,298	0,769
Хематокрит (%)	42,05±4,19	40,95±2,15	0,060	0,953
Тромбоцити (10 ⁹ /L)	266,00±55,59	233,00±71,73	-1,261	0,207
AST (U/L)	21,73±8,69	55,02±85,82	-2,566	0,010
ALT (U/L)	25,75±7,65	58,02±79,31	-2,994	0,003
Укупни билирубин (umol/L)	10,14±3,13	15,40±14,56	-0,154	0,878
Директни билирубин (umol/L)	2,76±2,18	2,84±2,05	-0,044	0,965
AF (U/L)	62,54±17,15	53,48±19,47	-1,853	0,064
GGT (U/L)	23,24±9,81	43,53±34,17	-2,523	0,012
LDH (U/L)	332,23±55,01	335,57±66,91	-0,415	0,678
Триглицериди (mmol/L)	1,31±0,40	1,66±1,06	-0,428	0,669
Холестерол (mmol/L)	4,20±0,78	3,73±0,89	-1,952	0,051
hcCRP (mg/L)	44,38±4,21	40,43±6,57	-1,733	0,083

Након терапије упоређивани су испитивани параметри у односу на вредности hsCRP. Утврђено је да постоји статистички значајна разлика у вредностима седиментације између ове две испитиване групе (7,93±4,65 vs 11,70±5,38, z=-2,260, p=0,024). Активност AST после терапије је била статистички значајно већа код испитаника који су имали hsCRP >1 у односу на другу групу (55,02±85,82 mg/L vs 21,73±8,69 mg/L, z=-2,566, p=0,010). Такође, је и активност ALT била статистички значајно већа код испитаника са hsCRP >1 у односу на групу која је имала вредности у

границама референтних за hsCRP ($58,02 \pm 79,31$ mg/L vs $25,75 \pm 7,65$ mg/L, $z = -2,994$, $p = 0,003$). Активност GGT је била статистички значајно већа код испитаника са hsCRP >1 у односу на другу групу ($43,53 \pm 34,17$ mg/L vs $23,24 \pm 9,81$ mg/L, $z = -2,523$, $p = 0,012$). Упоредјујући остале параметре после терапије утврђено је да не постоји статистички значајна разлика у вредностима у односу на вредности hsCRP (Табела 33).

Табела 34. Промена активности антиоксидативних ензима у односу на вредност hsCRP

	hsCRP<1 n=42	hsCRP>1 n=11	p
Промена SOD (U/gHb)	268,11±83,02	229,03±129,01	0,032
Промена GPx (U/gHb)	4,52±1,64	4,02±0,09	0,042
Промена CAT (U/gHb×10 ⁴)	0,88±0,52	0,85±0,45	0,007

Упоредјујући параметре оксидативног стреса после и пре терапије у односу на вредности hsCRP показано је да постоји статистички значајна промене активности SOD ($z = -2,149$, $p = 0,032$), затим у промени активности GPx ($z = -2,029$, $p = 0,042$), као и у промени активности CAT ($z = 2,690$, $p = 0,007$) (Табела 34).

5.8. Резултати анализе базичних активности антиоксидативних ензима у односу на базични ниво ХЦВ РНК (viral load)

Табела 35. Корелација базичне активности SOD, GPx и CAT са базичним нивоом целокупне популације пацијената са ННС

	R вредност	R ²	p
SOD у корелацији са HCV RНК	-0,2981	0,0889	0,030216*
GPx у корелацији са HCV RНК	-0,2529	0,064	0,068707
CAT у корелацији са HCV RНК	-0,2044	0,0418	0,14287

* $p < 0,05$

Вредност Pearsonovog коефицијента корелације (R вредност) за SOD износи -0,2981. Иако је то технички негативна корелација, веза између поменутих варијабли је слаба, пошто је ближа нултој вредности. Вредност коефицијента детерминације (R²) је 0,0889. P-вредност износи 0,030216, те постоји статистичка значајност за $p < 0,05$. Вредност Pearsonovog коефицијента корелације (R вредност) за САТ износи -0.2529. Иако је то технички негативна корелација, веза између поменутих варијабли је слаба, пошто је ближа нултој вредности. Вредност коефицијента детерминације (R²) је 0,0889. P-вредност износи 0,064, те не постоји статистичка значајност за $p < 0,05$. Вредност Пеарсоновог коефицијента корелације (R вредност) за САТ износи -0.2044. Иако је то технички негативна корелација, веза између поменутих варијабли је слаба, пошто је ближа нултој вредности. Вредност коефицијента детерминације (R²) је 0,0418. P-вредност износи 0,14287, те не постоји статистичка значајност за $p < 0,05$ (Табела 35).

5.9. Предиктивна вредност, сензитивност и специфичност антиоксидативних ензима у погледу постизања стабилног вирусолошког одговора

Табела 36. Униваријанта логистичка регресиона анализа у односу на исход терапије

		OR*	95%CI*	P
Мушки пол		0,750	0,131-4,309	0,747
Старост (године)		1,045	0,965-1,131	0,276
Степен фиброзе	1	Референтна категорија		
	2	2,111	0,344-12,973	0,420
	3	0	0	0,999
	4	2,375	0,171-32,999	0,519
Дужина инфекције (године)		1,079	0,872-1,334	0,484
Генотип	1 и 4	Референтна категорија		
	2 и 3	0,001	0,000-0,005	0,998
Ниво HCV RNK <2 милиона (IU/mL)		6,150	1,057-35,800	0,043
SOD<600 (U/gHb)		86,000	7,655-966,170	<0,001
GPx<18 (U/gHb)		0,002	0,000-0,004	0,997
CAT<4,5 (U/gHbx10 ⁴)		9,000	1,513-53,541	0,016
hsCRP<1 (mg/L)		3,562	0,664-19,113	0,138

*Odds/Ratio, унакрсни однос (OR), 95% Confidence Interval (CI) – 95% интервал поверења

У униваријантној логистичкој регресионој анализи као независни предиктори исхода терапије издвојили су се ниво ХЦВ РНК већи од 2 милиона IU/mL, SOD<600 U/gHb, и CAT<4,5 U/gHbx10⁴. Пацијенти који имају ниво ХЦВ РНК већи од 2 милиона IU/mL имају 6 пута (6,150) већи ризик за неуспех терапије. Пацијенти који имају SOD мањи од 600 имају 86 пута већи ризик за неуспех терапије, а пацијенти који имају CAT мањи од 4,5 U/gHbx10⁴ имају 9 пута већи ризик за неуспех терапије (Табела 36).

Табела 37. Мултиваријантна логистичка регресиона анализа у односу на исход терапије

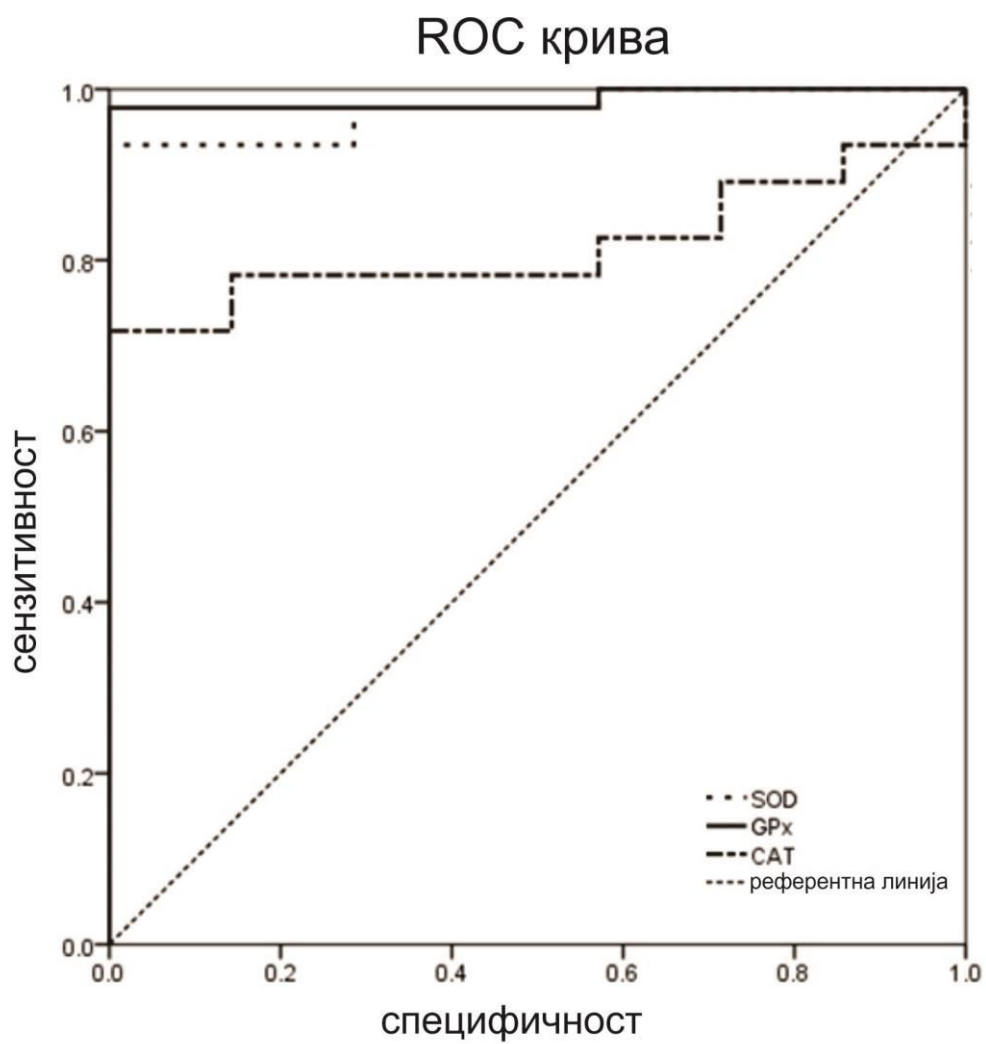
	OR*	95%CI*	p
Ниво HCV RNK <2 милиона (IU/mL)	4,885	0,313-76,216	0,258
SOD<600 (U/gHb)	58,610	4,389-782,695	0,002
CAT<4,5 (U/gHbx10 ⁴)	3,299	0,279-37,347	0,348

У мултиваријантни модел укључени су статистички значајни фактори ризика из униваријантних модела. У овом моделу се као статистички значајан фактор ризика коригован за остале факторе ризика извојио SOD мањи од 600 U/gHb. Пацијенти са SOD <600 U/gHb имају 58 пута већи ризик за неуспех терапије (Табела 37).

Табела 38. Параметри ROC криве у односу на исход терапије

	Гранична вредност	Сензитивност	Специфичност	AUC	95%CI	p
SOD (U/gHb)	627,58	93,5%	100,0%	0,975	0,938-1,013	<0,001
GPx (U/gHb)	17,10	97,8%	100,0%	0,988	0,961-1,014	<0,001
CAT (U/gHbx10 ⁴)	4,66	71,7%	100,0%	0,817	0,706-0,928	0,007

Анализа Криве оперативних карактеристика тј. Receiver Operating Characteristic Curve (ROC) анализа је показала да је GPx најбољи дијагностички маркер у процени успеха терапије (површина испод криве тј. Area Under the Curve (AUC) износи 0,988), нешто ниже вредности има SOD (AUC је 0,975), а најслабију дискриминативну способност има CAT (AUC је 0,817). Овом статистичком методологијом одређена је и гранична вредност, специфичност и сензитивност испитиваних параметара. Гранична вредност за SOD је готово једнака вредности која је коришћена у логистичкој регресији (627,58 U/gHb). Слично је и са граничним вредностима за GPx и CAT (17,10 U/gHb односно 4,66 U/gHbx10⁴). Ензими SOD и GPx имају високу и специфичност и сензитивност, а CAT има нешто нижу сензитивност (Табела 38).



Графикон 11. ROC анализа за вредности SOD, GPx и CAT у односу на исход терапије

6. Дискусија

6.1. Демографске карактеристике оболелих од хроничног хепатитиса Ц

Епидемиолошке карактеристике хепатитис Ц вирусне инфекције у погледу пола и старости, без обзира на одсуство појединих ризичних група (које нису узете у разматрање због већ преморбидно нарушеног оксидативно/антиоксидативног статуса), сличне су резултатима епидемиолошких истраживања спроведених на тлу Србије, с обзиром да у незнатној мери доминира мушки пол, и да је просечна старост наших испитаника у опсегу резултата новосадских аутора. У поменутом раду, приказано је да су 67,43% пацијената особе мушког пола, а најчешће заступљена старосна група од 20 до 39 година (107). Што се тиче образовања, највише је било пацијената са средњим образовањем, као што је саопштено и у резултатима истраживања међу ХХЦ пацијентима из Грчке (49.5%), само што у нашем случају није било пацијената чије се школовање завршило са основном школом (108).

У Србији, пацијенти су најчешће инфицирани парентералним путем (30% су интравенски уживаоци дрога) или трансфузијама крви и крвних деривата (20.2%). На хируршке интервенције као могући вид трансмисије, отпада 8.5% болесника. Код чак 33.5% пацијената није доказан ризик трансмисије. Само 0.4% инфицираних добило је ХЦВ инфекцију сексуалним путем. У земљама источног Медитерана, најчешћи пут преноса ХЦВ инфекције су хируршке интервенције (чак 98%), а други пут по учесталости јесу трансфузије крви, са 39.7%. Ова два модуса трансмисије следе стоматолошке интервенције са 27.5%, абортуси са 21.2%, дуготрајне хоспитализације са 11.6%, хемодијализа са 10%, интравенозно коришћење дрога са 3.1%, 1.5% отпада на сексуални контакт, а у осталих 6% спадају козметичке процедуре, професионална трансмисија, тетовирање, акупунктура, обрезивање, случајни убоди на иглу ван болнице (108). Са друге стране, доминантан извор ХЦВ инфекције у развијеним земљама, као што су државе западне Европе, Канада и САД, најчешћи пут трансмисије јесте путем интравенозног коришћења дроге, чак и преко 90%, док је јатрогени пут инфекције (хируршке интервенције, трансфузије крви), релативно редак, и испод 5% (109). Рекло би се да је заступљеност различитих видова трансмисије у Србији негде процентуално између резултата саопштених из земаља источног Медитерана и поменутих развијених земаља. С обзиром на искључење појединих ризичних група пацијената из наше студије, може се рећи да су у сагласности са резултатима српских

аутора, с обзиром да највећи број инфицираних ХЦВ отпада на интравенозне кориснике дрога, али код нас у већем проценту. Трансфузија није на другом месту као вид трансмисије, већ на трећем, уместо хируршких интервенција.

6.2. Хистолошке карактеристике јетре код оболелих од хроничног хепатитиса Ц

Проучавањем НАИ, нађено је одступање у односу на резултате већине аутора. С обзиром да се овај индекс добија комбинованим скоровањем степена некрозе, инфламације и фиброзе у јетри, очекивано је да буде приближно истих вредности, пошто се резултати подударaju у смислу степена фиброзе. Међутим, код пацијената са ХХЦ проучаваних у овој дисертацији, највећи НАИ скор је двоструко, па и троструко мањи у односу на резултате страних аутора, мада се подудара са резултатима српских истраживача (110, 111).

У студији Ножића и сарадника, није било статистички значајне разлике у стадијуму болести, тј. степена фиброзе између генотипова (112), као и у резултатима аутора ван простора наше земље (113) Без обзира што су из ове дисертације искључене неке групације ХЦВ позитивних болесника, резултати су у складу са пређашње поменути. Ни хистолошка активност (НАИ) ни степен фиброзе нису се значајно разликовали код појединих генотипова, пошто смо их поделили на оне са степеном фиброзе мањим од 2 и већим или једнаким два. Међутим, уколико се посматрају појединачно, може се приметити како је генотип 1 удружен са већим степеном фиброзе. То се може објаснити значајно већом просечном старошћу болесника у односу на друге генотипове. Ову процену отежавају остали независни фактори, као што су доб пацијената и дужина трајања инфекције. Наиме, старије особе имају бржу прогресију болести од млађих са истим трајањем инфекције (38). Тачно трајање инфекције код наших болесника било веома тешко сасвим прецизно одредити, ако се узме у обзир да је било пацијената са непознатим начином преноса инфекције, као и оних који су имали неколико медицинских интервенција у различитим временским размацама.

6.3. Вирусолошке карактеристике оболелих од хроничног хепатитиса Ц

У Србији је најфреквентнији генотип 1б (49.1%), затим генотип 3 (21.2%) и генотип 1а (8.5%). Фреквенција генотипова 2 и 4 је испод 5%, а мешовите инфекције срећу се у 9.1% случајева. Дистрибуција генотипова је процентуално слично заступљена у различитима ризичним групама: интравенозним коеисницима дрога, пацијентима на трансфузији крвних деривата, пацијентима који су претходно оперисани, и онима са непознатим фактором ризика. Једино се издваја група пацијената који су подвргавани хемодијализи и хируршким интервенцијама где постоји значајна разлика у поређењу са групом непознатог узрока преноса. Такође, уочава се и значајна старосно-зависна дистрибуција генотипа 3 у српској популацији (115). Слични резултати саопштени су и у осталим радовима српских истраживача, где се потврђује преобладајућа заступљеност ХЦВ генотиповима 1б и 3а. Утврђено је да је најчешћа инфекција у Србији са генотипом 1 (63%), затим генотипом 3 (19.7%). Ређе су инфекције са генотипом 2 (6.7%) и генотипом 4 (4.6%). Мешовите инфекције, са два или три генотипа, доказали су код 6% инфицираних. Болесници са генотипом 1 били су значајно старији (>40 година), док су болесници инфицирани генотипом 3 и 4 били чешће млађе особе (< 40 година). Запажено је и да различити генотипови јесу повезани са одређеним хистопатолошким манифестацијама болести. Генотип 1б има учесталију умерену и озбиљну некроинфламаторну активност болести, значајно виши скор стадирања у односу на остале генотипове. Такође, запажен је и виши степен фиброзе у односу на остале генотипове. Није било значајне корелације између некроинфламаторне активности болести и степена фиброзе код генотипова 1б, 4 и мешовитих генотипова (115). У следећем раду проширени су резултати епидемиолошке анализе. Значајне генотипске варијације доказане су међу различитим ризичним групама, што указује на блиску повезаност између одређених генотипова ХЦВ и појединих начина вирусне трансмисије. Генотипизацијом ХЦВ РНК позитивних серума аутори су доказали да је најчешћи генотип 1 (63%), а прати га генотип 3 (19.7%). Учесталост генотипова 2 и 4 су 6.7% и 4.6%, понаособ. Болесници са генотипом 1 били су сигнификатно старији (≥ 41 годину), док су болесници инфицирани генотипом 3 и 4 били чешће млађе особе (≤ 40 година). Код наших болесника, интравенска наркоманија је била најчешћи начин трансмисије ХЦВ (30%

инфицираних). Сигнификантно чешће, мушкарци су добијали ХЦВ инфекцију интравенским коришћењем дроге или *body piercingom*, док су се жене најчешће инфицирале због професионалног ризика (31). Сличне резултате имају и словеначке колеге, које указују на тесну везу између појединих генотипова ХЦВ и одређених путева трансмисије вируса. Код пацијената инфицираних трансфузијом крви, 19% имало је генотип 1a, 81% генотип 1b, нико није био инфициран генотипом 3. Код пацијената непознатог узрока трансмисије, доминантан је био генотип 1b (54.4%), затим генотип 1a (24.6%), генотип 3 (15.8%) и генотип 2 (5.2%). Генотип 3 (45.9%) и генотип 1a (43.2%) доминирали су код интравенозних корисника дроге. Код пацијената на хемодијализи, генотип 1 и 2 били су такоређи исто фреквентни (40.5% и 37.8%), после којих је следио генотип 3 (21.6%) (116).

У нашој студији преобладава генотип 1 са учесталошћу од 50.9%. Слична дистрибуција ХЦВ генотипова је и у многим земљама источне и западне Европе као и у медитеранским земљама. Изузетак је Грчка где преобладава генотип 3a. Географске различитости у дистрибуцији ХЦВ генотипова су данас јасно изражене и указују на епидемиолошко порекло вируса (117).

У јапанској студији, прогресија у фиброзу је константована код 68% болесника са генотипом 1b и 42% болесника са генотипом 2. У овој студији просечни нивои серумске ХЦВ РНК били су значајно виши код болесника инфицираних генотипом 1b. Нивои серумске ХЦВ су независни фактори од вирусног генотипа и високи нивои сами по себи могу убрзати прогресију болести (118). У аргентинској студији ниво ХЦВ РНК у mL крви износио је 688 000, што је мање у односу на просечан резултат из наше студије. Аргентинске колеге нису нашле статистички значајну разлику у броју копија ХЦВ РНК у mL крви између различитих генотипова, као ни по полу, годишту, трајању инфекције. Наше истраживање показало је статистичку значајност између генотипа 1 и 4, који спрам генотипа 2 и 3 имају виши просечан број копија ХЦВ РНК/mL крви (119). Резултати ове дисертације у погледу *viral loada* су негде на средини (890 895 IU/mL) између претходно поменутих и резултата истраживања (1 885 716 IU/mL) (115). Разлику у резултатима можемо објаснити нашим селективним приступом у одабиру болесника, с обзиром да су изостављене оне групе пацијената које и без ХЦВ инфекције имају нарушен антиоксидативни баланс, а што ће се у даљем тексту доводити у везу са *viral loadom*.

6.4. Базичне и посттерапијске вредности биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц

Анализирајући резултате основних параметара биохуморалног статуса пацијената са ХХЦ из нашег истраживања, уочили смо да сем активности трансаминаза, GGT и вредности hsCRP нема статистички значајне разлике у односу на здраву популацију. Пошто је за јетру специфичнији ензим, у радовима који се тичу ХХЦ, углавном се прати ALT. Повишена активност ALT се редовније среће од повишења активности AST, вероватно због чињенице да се ALT налази превасходно у цитоплазми хепатоцита, па је бољи маркер болести јетре (120). Ипак, најчешће се срећу повишене активности и AST и ALT пре антивирусног третмана, док се после терапије њихове активности значајно смањују, те се сматра да је дејство антивирусне терапије ограничило репликацију ХЦВ, тиме смањујући оштећење јетре (121). Више од две трећине пацијената са ХХЦ има повишену активност ALT, а преко половина њих има мање од два и по пута повишену активност ALT. Што се цирозе тиче, углавном је у вези са ниским нивоима серумског албумина, и реверзног односа AST/ALT, сниженим нивоом тромбоцита и продуженог протромбинског времена. У највећем броју истраживања наилази се на исте резултате (122, 123), мада има и супротних, као што су, мада је ту незанемарљив број пацијената са ХХЦ и екстрахепатичким, имунолошким манифестацијама, као и оних са цирозом, где је очекивано промењен број неутрофила, еритроцита и тромбоцита (124). Повишена активност GGT се често виђа код пацијената са ХХЦ. Значај овог налаза је и даље нејасан. Виђа се у преко 48% ових пацијената, при чему није доказана веза са оштећењем жучних путева, за разлику од старости преко 40 година, повишене активности ALT и степена фиброзе, па се може сматрати и индиректним маркером напредовања болести јетре у ХХЦ (125). Серумски високо hsCRP је у корелацији са клиничким профилима пацијената са ХХЦ, код којих су његове вредности су значајно повишене у односу на здраву популацију. Примећено је да вредности hsCRP статистички значајно падају након комбиноване антивирусне терапије (126). Као главни протеин реактант акутне фазе, а при чему се производи у јетри, сматра се да би могао бити медијатор оштећења ткива и фактор који активира систем комплемената (127).

С обзиром на то да је hsCRP маркер инфламације која чији се механизам патогенетски прожима са оксидативним стресом у настанку ХХЦ, претпоставили смо

да ће након терапије доћи до смањења његовог нивоа. Очекивано, ниво hsCRP се статистички значајно смањено у односу на вредности пре третмана. Експресија овог протеина акутне фазе у хепатоцитима је повезана са проинфламаторним цитокинима, као што су TNF- α , IL-1 и IL-6. Подаци из истраживања Huang CF и сарадика (126) слажу се са резултатима ове дисертације, те са истом статистичком значајношћу показују смањење нивоа серумског hsCRP након комбиноване терапије пегилованим интерфероном и рибавирином. Из овога се може закључити да се системски инфламаторни одговор може ефективно смањити после антивирусне терапије, нарочито код пацијената који постигну SVR.

Активност аминотрансфераза се очекивано статистички значајно смањила, односно нормализовала после терапије ($p < 0,001$), потпуно подударно са резултатима радова који упоређују клиничко-лабораторијске карактеристике ХХЦ пре и после третмана пегилованим интерфероном и рибавирином. Активност GGT, иако пре третмана није била ван референтног опсега, после комбиноване антивирусне терапије статистички се значајно смањила. Иако је овај ензим, пре свега, ензим мембране епителних ћелија жучних путева, има га и у ендоплазматском ретикулуму хепатоцита, тако да се код пацијената са ХХЦ може очекивати и умерено повећање његове активности (128, 129).

6.5. Базичне и посттерапијске активности антиоксидативних ензима код оболелих од хроничног хепатитиса Ц

Значајно повећање RVK доказано је у невирусном хепатитису, нарочито у хемохроматози, Вилсоновој болести и алкохолном оштећењу јетре, али као последица већ започетог патогенетског процеса. У проблематици ХХЦ, истраживачи се фокусирају на оксидативни стрес као иницијатор патогенезе болести јетре (130).

До сада је било много покушаја да се нађу серолошки или ћелијски маркери који би били од помоћи у спровођењу и процени одговора на терапију ХХЦ, укључујући плазматски viral load, анти-ХЦВ антитела. Различите имунолошке факторе и хепатичку вирусну RNA (131).

Иако се интерферон-алфа и даље користи у лечењу хроничног вирусног хепатитиса, његови ефекти на оксидативни и антиоксидативни статус пацијената још увек није познат, а такво сазнање може бити значајно у доношењу одлуке о избору

терапије, прогнозе, посттерапијског праћења пацијената. Извештаји из неколико истраживања дали су евидентан доказ да постоји корелација између типа, озбиљности болести и антиоксидативног нивоа у крви. Иако је права улога имунолошких механизма у патогенези ХХЦ већ утврђена, научници покушавају да истраже механизме развоја оксидативног стреса кроз патогенезу болести (132).

Реактивне врсте кисеоника, произведене у митохондријама, пероксизомима и цитозолу, одстрањују ћелијски одбрамбени системи, и то ензимски (SOD, GPx, глутатион редуктаза, CAT и GGT) и неензимски антиоксиданти (GSH, тиоредоксин, липоична киселина, убиквинол, албумин, урична киселина, флавоноиди, витамини А, С и Е,...). Неки се налазе у ћелијској мембрани, а остали у цитозолу или у плазми (133). Хронична хиперпродукција RVK пореметиће оксидативни баланс, нарочито у смислу GSH као главног неензимског антиоксиданта, који је супстрат у реакцијама коњугације и редукције, без изузетка (134). Систем аутооксидације глутатиона има неколико физиолошких функција као што су одржавање протеин-SH група у редукованом стању, детоксикација од кисеоничних радикала, ензимска деградација ендогених пероксида и формирање биоактивних молекула. Реактивне врсте кисеоника (супероксидни анјони, хидроген пероксид, хидроксилни радикали) су молекули релативно кратког полуживота да би испољили локално дејство. Ипак, они могу да нападну полинезасићене масне киселине и започну липидну пероксидацију у ћелији, чији ће крајњи ефекат бити настанак алдехидних продуката, као што су транс-4-хидрокси-2-ноненал и малондиалдехид. Ови молекули имају дуже полуживоте од RVK и способни су да дифундују са места одакле су настали до удаљених унутарћелијских и ванћелијских мета, умножавајући ефекте оксидативног стреса (135). У хроничним обољењима јетре, производња RVK је мултифакторијелан процес. Дуготрајни некроинфламаторни услови могу да доведу до настанка RVK. Инфламација и некроза хепатоцита у ХХЦ је у директној вези са настанком RVK (136). Оксидативни стрес води оштећењу хепатоцита и липидној пероксидацији њихове мембране, због чега долази до ослобађања малондиалдехида и смањења нивоа GSH (130).

Индукција оксидативног стреса вирусом хепатитиса Ц до сада је доказивана помоћу неколико различитих приступа, укључујући мерење: RVK, антиоксиданата, експресије нивоа и активности антиоксидантних одбрамбених ензима и продуктима интеракције RVK са биолошким молекулима. Детекција ових компоненти вршена је у биоптатима јетре пацијената са ХХЦ, предочавајући директан утицај ХЦВ, као и у

узорцима крви ових пацијената, стављајући акценат на потенцијалну корелацију између концентрација ових компоненти/ензима и тока болести у јетри. Директним мерењима у јетрином ткиву откривена је повећана концентрација RVK, од 2 до 5 пута. Значајно повећање је описано и у лимфоцитима пацијената са ХХЦ. Ови подаци су подржани бројним радовима који указују на повишени ниво тоталне прооксидантне активности или такозвани "кластогени скор"- могућности да се модификује DNA у плазми пацијената (136). Супероксид дизмутаза је ензим који катализује дизмутацију два супероксидна анјона (O_2^-) у хидроген пероксид и молекуларни кисеоник. Супероксид дизмутаза у одређеном степену штити ткиво од штетних ефеката супероксидних радикала. Постоје две форме SOD, Cu-Zn-SOD и Mn-SOD. Каталаза и GPx независно хидролизују H_2O_2 у молекуле воде и кисеоника. Активност ових ензима игра важну улогу у настанку и прогресији болести (137). Код пацијената инфицираних вирусом хепатитиса Ц ниво интерферона расте у нормалним физиолошким околностима и то стимулише имунске (фагоцитна и цитотоксична активност као и НК ћелије) механизме у телу. Неки научници указују да, по инфекцији вирусом, ниво интерферона на почетку, у акутној фази расте, а опада што време више одмиче. Сматра се да промене у оксидативно-антиоксидативном балансу имају одлучујућу улогу у прогресији оштећења јетре те IFN α може бити ефикасан у терапији оштећења јетре и побољшању антиоксидативног система (138). Паралелно, у почетку расте ниво антиоксиданаса, да би у хроничној фази, опала испод нормалних вредности. Пацијенти са ХХЦ показују смањене нивое антиоксидантних одбрамбених ензима као што су SOD, GPx у периферним мононуклеарним ћелијама пацијената са ХХЦ (122), мада су описани и повишени нивои (139) и смањени нивои еритроцитне CAT (140).

Маркери оксидативног стреса запажени су и код пацијената са хроничним хепатитисом Ц као и у различитим ин витро системима, укључујући репликоне стабилних ћелијских линија које експримирају вирусне протеин. Трагањем за изворима RVK код пацијената инфицираних ХЦВ откривено је неколико механизма за продукцију RVK. Током претходних година показано је да ХЦВ модификује механизме антиоксидативне одбране (136).

Већина научника фокусира се на откривање извора RVK у самим хепатоцитима. Индукција оксидативног стреса у овим ћелијама приписивана је скоро свим вирусним протеинима: core, E1, E2, NS3/4A, NS4B, NS5A (136, 141, 142). Протеин ХЦВ core је најјачи регулатор, док је NS5A заслужан за рани настанак RVK и

RVN. Сматра се да су за производњу RVK заслужни Nox и митохондрије. Репликација ХЦВ као и експресија core протеина доводи до митохондријалне дисрегулације, која често резултује апоптозом. Ове митохондријалне промене праћене су масивном производњом RVK, захваљујући инхибицији активности електронског транспортног комплекса 1. Ово својство се приписује углавном core протеину, јер је овај ефекат наглашенији у контексту целодужинског (full length) репликаона у поређењу са субгеномичким репликаоном. Сматра се да је митохондријална дисфункција резултат повећане експресије прохибитина, митохондријалног шаперона који може да реагује са и да регулише експресију митохондријалног респираторног комплекса IV као и електронског транспортног комплекса. За повећану експресију прохибитина заслужан је core протеин (143, 144). Вирус хепатитиса Ц доводи до производње RVK такође и редистрибуцијом калцијума у ендоплазматском ретикулуму, цитоплазми и митохондријама. Хелатори интрацелуларног калцијума спречавају настанак оксидативног стреса у ћелијама које показују експресију ХЦВ полипротеина, NS4B или core протеина. Код ћелија које експримирају core протеин или NS5A, може се уочити да је повећан ниво активности митохондријалног калцијумског унипортера. Доказано је и да NS5A и core протеин снижавају залихе калцијума из ендоплазматског ретикулума, повећавајући тако концентрације цитоплазматског калцијума, изазивајући пасивно пропуштање калцијумског јона и инхибицију калцијумске АТФ-азе саркоплазматског/ендоплазматског ретикулума. Поред тога, на редистрибуцију калцијума могу утицати и RVK, јер је директно иницира H_2O_2 а супримирају је антиоксиданти (145). NADPH оксидазе представљају додатни извор RVK у ћелијама инфицираним ХЦВ. Седам трансмембранских ензима (Nox1-5, дуална оксидаза 1-2, dual oxidase 1-2 (DUOX1-2)) учествују у транспорту електрона кроз мембране, тиме производећи супероксидни анион или H_2O_2 . Доказано је да је главни регулатор експресије Nox4 ензима управо HCV core протеин, и то путем TGF β 1. Посебно је важно нагласити способност Nox да стварају RVK управо у нуклеусу. Још један потенцијални извор RVK у ћелијама инфицираним ХЦВ јесу ензими ендоплазматског ретикулума, цитохром P450 2E1 (CYP2E1) који учествује у катаболизму етанола. Опште је познато да алкохолизам удружен са ХЦВ инфекцијом води ка дубљем оксидативном стресу и погоршању тока болести. Инфекција вирусом хепатитис Ц олакшава експресију CYP2E1 у јетри пацијената са ХХЦ и почетним степеном фиброзе. У ћелијским културама коекспресија CYP2E1 код ћелија са експресијом HCV core протеина повећава производњу RVK, док инхибиција цитохромске ензимске

активности умањује ниво оксидативног стреса. У сваком случају, RVK су проистекли ипак у већој мери из митохондрија него из ендоплазматског ретикулума, што се објашњава способношћу RVK да преместе CYP2E1 из ендоплазматског ретикулума у митохондрије (146, 147, 148).

Запажено је механизам повећања производње RVK представља не само смањење нивоа резерви калцијума у ендоплазматском ретикулуму већ и повећан ниво "неодвијених" протеина у ендоплазматском ретикулуму након транслације, захваљујући core протеину, E1, E2 и NS4B протеинима. Такође, исти протеини ХЦВ доводе до активације путева антиоксидативне заштите, Nrf2/ARE (елемент антиоксидативног одговора, Antioxidant Responsive Element (ARE)). У хепатоцитима инфицираним ХЦВ, повећана је транскрипција Nrf2 као и фосфорилација Nrf2 посредована MAP киназама. Самостална експресија било ког од ових протеина, такође је водила значајној индукцији антиоксидативне заштите. Протеин ХЦВ core и NS5A индукују активацију Nrf2/ARE путева двојаким путем, и RVK зависним и RVK независним механизмима (149)

Протеомичке анализе ткива јетре пацијената са ХХЦ, добијених биопсијом, инфицираних различитим генотиповима и различитих степена фиброзе нису дале усаглашене резултате. У јетри ових пацијената је значајно варирао активност антиоксидативних ензима, без уочљиве правилности између група пацијената. Из тог разлога потребна су даља истраживања на тему система антиоксидативне заштите у прогресији ХХЦ, где би се обратила посебна пажња на улогу генотипова ХЦВ, као и корелација са вирусолошким и патохистолошким статусом (136).

У неким истраживањима, нивои RVK корелирају са хистолошком прогресијом болести, али не и са активностима аминотрансфераза (150). По другим ауторима, вредности ALT и AST позитивно корелирају са различитим серумским маркерима оксидативног стреса, а негативно са антиоксидантима, као што је витамин С (151). Интересантна је чињеница да се повишење ALT, код пацијената са претходно дуготрајно стабилним нормалним нивоима аминотрансфераза, може предвидети на основу пораста маркера оксидативног стреса (152).

Фиброза јетре је још један вид хепатичке дисрегулације настао због оксидативног стреса у јетриним ћелијама инфицираним ХЦВ. Показано је да повећање маркера оксидативног стреса као што су малондиалдехид и 8-изопростан у урину

пацијената са ХХЦ корелирају са степеном фиброзе. Детаљнија истраживања открила су неколико могућих механизма којима ХЦВ утиче на депозицију колагена у екстрацелуларни матрикс. Један од њих јесте индукција трансформишућег фактора 1β (TGF 1β) у хепатоцитима и Куферовим ћелијама, и то под утицајем RVK. Ово подржава неколико радова који потврђују повишене нивое цитокина у јетри и плазми болесника са ХХЦ са јасном корелацијом између нивоа TGF 1β и степеном фиброзе. Детаљна анализа открива да је индукција TGF 1β изазвана 4 ХЦВ протеинима: core, NS3/4A, NS4B и NS5A, као и да је постигнута путем каскада MAP киназа које доводе до активације NF- κ B транскрипционог фактора (153). Други концепт подржава теорију да су хепатичке стелатне ћелије, које преузимају апоптоичка телашца из ХЦВ инфицираних ћелија, стимулишу фиброгенезу интеракцијом са ХЦВ core и E2 протеином, експримираним у њима. Све ово води значајном увећању производње TGF 1β фактора раста везивног ткива, connective tissue growth factor (CTGF), колагена типа I и осталих профибротичких протеина. Core и E2 протеином изазвани оксидативни стрес доводи до супресије матрикс металопротеиназе 1 (MMP-1) и осталих молекула одговорних за деградацију екстрацелуларног матрикса и реверзије активације хепатичких стелатних ћелија (154). Трећи механизам фиброгенезе представља повећана производња фибромодулина, протеогликана којег између осталих, синтетишу и хепатоцити као и хепатичке стелатне ћелије. У средини оксидативног стреса, нарочито RVK насталих посредством CYP2E1, фибромодулин је подстрекивач пролиферације, миграције и инвазије хепатичких стелатних ћелија (155). Постоји још једна теорија која објашњава настанак оксидативног стреса у ХХЦ повишеном депозицијом гвожђа. Јони гвожђа учествују у продукцији RVK преко Фентонове реакције, која се заснива на конверзији H_2O_2 ниске активности у високо активне хидроксилне и пероксидне радикале. Концентрација гвожђа у хепатичким ћелијама регулисана је помоћу трансферинских рецептора (TfR) и феропоетина, који контролишу улаз и излаз комплекса гвожђе-феритин (136).

Јапански научници су утврдили антиоксидантну улогу интерферона алфа, поред антивирусне и имуномодулаторне. Доказано је, *in vivo* испитивањима јетре пацова изложених оксидативном стресу, да интерферон алфа дозно зависно повећава нивое SOD, GPx и смањује нивое производа липидне пероксидације (156, 157).

Неструктурални протеини ХЦВ формирају рибонуклеопротеински комплекс који је локализован на мембрани ендоплазматског ретикулума. Ово удруживање

индукује ендоплазматско ретикулумски стрес, који се огледа у неразвијању протеина (unfolded proteins). Смањени нивои калцијума у ендоплазматском ретикулуму и преузимање истог у митохондријама води стварању RVK. Неколико ХЦВ протеина, укључујући core, NS3 и NS5A индукују оксидативни стрес у култури ћелија. Реактивне врсте кисеоника понашају се као секундарни преносиоци поруке, активирају ћелијске киназе. Неке од ових киназа активирају транскрипционе факторе који су у латентном стању у цитоплазми, као што су STAT-3, нуклеарни фактор капа Б (nuclear factor kappa B (NF-κB)), нуклеарни фактор активираних Т ћелија (nuclear factor of activated T cells, (NF-AT)). Онкогени транскрипциони фактор STAT-3 је активисан фосфорилацијом тирозина као одговор на екстраћелијске сигнале, као што су цитокини и фактори раста. Везивање цитокина интерлеукина-6 или фактора раста за рецепторе довешће до димеризације рецептора и активације са рецепторима удруженим JAKs, и последичним активирањем STAT-3 протеина. Активирани STAT-3 се премешта у нуклеус да би регулисао експресију гена. Поред активације фосфорилацијом тирозина, фосфорилација посредована MAPKs доприноси максималној транскрипционој активности. Као одговор на оксидативни стрес индукован експресијом ХЦВ гена, p38 MAPK, JNK, JAK2 и Src киназе учествују у активацији STAT-3, а што даље доприноси стимулацији ХЦВ РНА репликације (95). Главни цитокини одговорни за активацију STAT1 и STAT2 у јетри јесу IFN-α и IFN-β, те имају антивирусно, антитуморско, проапоптоичко и проинфламационо дејство. Антивирусно дејство интерферона α и β у лечењу вирусних хепатитиса посредовано је модулацијом имунског система активацијом JAK-STAT сигналних путева. Слаб одговор на терапију хепатитиса Ц интерфероном се објашњава способношћу вирусних протеина (core, E2, NS5A) и фактора домаћина (конзумирање алкохола) да инхибирају сигнале активираних интерфероном (158).

Испитивањем активности антиоксидативних ензима еритроцита показано је да просечна вредност SOD у еритроцитима ХЦВ позитивних пацијената пре терапије јесте статистички значајно нижа него код здравих контрола (121), што је у складу са нашим резултатима, са истом статистичком значајношћу од 0,001.

То говори у прилог смањеној ефикасности антиоксидативне заштите код ХЦВ позитивних пацијената и немогућности да се неутралишу слободни радикали кисеоника који настају у вишку, што последично води лезији јетре (159).

Исте резултате ови аутори (121) саопштавају за GPx. Ензим GPx разлаже водоник пероксид оксидацијом редукованог глутатиона и конвертује липидне пероксиде у безопасне молекуле, штитећи ћелију од последица липидне пероксидације, тако да је у овом раду то повезано са његовом смањеном активношћу код пацијената са ХХЦ са истим нивоом статистичке значајности као у нашем раду. Ови резултати указују да је антиоксидантни систем глутатиона нарушен код хепатоцелуларног оштећења и подржава хипотезу да оксидативни стрес игра главну улогу у развоју болести јетре (160).

Chrobot и аутори (160) наводе значајно смањену активност САТ код својих ХЦВ позитивних пацијената у односу на здраву популацију.

Наши резултати су у складу са Ciragilom и сарадницима (161) који су показали да је активност САТ смањена код пацијената са ХХЦ и SOD, а повећана код пацијената са ХХБ што говори у прилог оксидативног оштећења јетре код ових пацијената и оксидативног стреса као основе патогенезе хроничног хепатитиса С. Други аутори су показали смањење активности и SOD и САТ код свих вирусних хепатитиса (162).

Статистички значајно повећање након терапије пегилованим интерфероном α 2b промениле су се вредности SOD, CAT, GPx, AST, ALT, GGT и hsCRP. Исте резултате су добили и Levent G. и сарадници (121) за SOD и CAT, тврдећи да иако интерферон алфа и рибавирин нису антиоксиданси, њихов антивирусни капацитет може смањити viral load и инфламацију и тим механизмима може редуковати и вирусом изазван оксидативни стрес мада Lu G, 2002 тврди да има антиоксидативни ефекат (156). Пацијенти са хроничним хепатитисом Ц показују повећану продукцију TNF- α , цитокина који доводи до оксидативног стреса стимулишући акумулацију RVK (163). После завршетка терапије интерфероном, пацијенти који су постигли SVR, имали су нормалне вредности TNF α mRNA и у јетри и у периферним мононуклеарним ћелијама, и значајно ниже од пацијената који нису одговорили на терапију интерфероном или од оних који су имали релапс након завршетка лечења (140).

У нашем раду доказана је позитивна корелација између SOD, CAT и GPx. У доступној литератури нема сличних истраживања и резултата за ХХЦ, мада је доказана позитивна корелација у другим болестима јетре повезаних са нарушеним оксидативним балансом (164) Као што приказују резултати горе наведених истраживања SOD, CAT и GPx, активности ова три антиоксидативна ензима су

углавном снижене у ХХЦ. Има и делимично противуречних резултата, који наводе снижену активност GPx, али и повишену активност SOD, без јасног објашњења. Утврђена је негативна корелација између GPx, осталих ненезимских антиоксиданата као и базичног viral loada (нижи нивои GPx корелирају са са већим бројем ХЦВ вирусних копија у крви) (165). Из овог се може закључити да систем антиоксидативне одбране утиче на репликацију вируса.

Корелациона анализа испитиваних биохемијских параметара показала је постојање негативне корелације hsCRP са серумским албуминима а позитивне са AST и AFP, као и позитивну корелацију AFP са AST. Има података о позитивној корелацији степена фиброзе јетре са билирубином, AF, GGT, AST, ALT, глобулинама, AFP и нивоима ДНК у ХБВ инфекцији и негативној корелацији са албуминима и тромбоцитима (166). Има података да се поменути параметри у постојању корелације са hsCRP могу интерпретирати у контексту степена оштећења јетре у обољењима различите етиологије све до хепатоцелуларног карцинома (167).

Мали број радова са тематиком патогенезе ХХЦ и оксидативног стреса приказује резултате који директно указују да нарушени оксидативно-антиоксидативни баланс покреће оштећење јетре, а не обрнуто (168, 169). Корелациона анализа у нашем истраживању показује да пре терапије постоји међусобна негативна корелација између сва три антиоксидативна ензима са активностима AST и ALT, одакле се не може закључити шта је примарни покретач болести а шта последица и интермедијерни елемент прогресије. Корелациона анализа поменутих параметара по завршетку терапије показује да нема негативне корелације антиоксидативних ензима са AST и ALT, већ само међусобне. То говори у прилог чињеници да нарушени антиоксидативни статус може бити репрезент оксидативног стреса као иницијатора патогенезе ХХЦ, а не резултат оштећења јетре. Једино GPx негативно корелира са AST и ALT после терапије.

Међусобним поређењем промене активности испитиваних антиоксидативних ензима покушали смо да утврдимо да ли у различитој или истој мери позитивно реагују на терапију. Наши резултати показују најбољи одговор GPx, а најгори SOD. Има радова у којима је одговор на антиоксидативну терапију дозно зависан (170). Мало је радова који доводе у везу постизање стабилног вирусолошког одговора и параметре оксидативног стреса. У раду Angelico F. и сарадника (171) помиње се

маркер оксидативног стреса, 8-iso-prostaglandin- α (8-iso-PGF- α), као предиктивни фактор лошег RVR. Оксидативни стрес не само да убрзава прогресију оштећења јетре, већ утиче и на имунски одговор на ХЦВ инфекцију и смањује SVR (172).

6.6. Активност антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на исход терапије (стабилни вирусолошки одговор)

Резултати нашег истраживања такође указују на позитивну везу између SVR и оксидативног статуса. Активност антиоксидативних ензима није се статистички значајно променила код пацијената који нису постигли SVR. Такође, није дошло до промене вредности ни осталих испитиваних биохемијских параметара. За сада нема објављених резултата других истраживања која би презентовала да ли има разлике у SOD, CAT и GPx код пацијената који јесу и који нису постигли SVR. Ипак, има резултата који нису нашли промену у нивоу оксидативног стреса између поменутих групација пацијената, мада, антиоксидативни статус није мерен преко активности антиоксидативних ензима већ преко тоталног антиоксидативног капацитета (173). Испитаници у нашем истраживању који су постигли SVR су показали статистички значајно повећање активности SOD, GPx, CAT ($p < 0.001$). Ова чињеница говори да базични антиоксидативни статус код пацијената оболелих од ХЦВ може послужити као фактор предвиђања успеха или неуспеха комбиноване антивирусне терапије. Остали испитивани базични параметри се нису статистички значајно разликовали, сем HAI који је статистички значајно повећан код пацијената који нису постигли SVR у односу на оне који јесу. Овим резултатима говори у прилог истраживање, у којем је доказано да пацијенти са минималним HAI стопроцентно одговарају на комбиновану антивирусну терапију, пацијенти са благим степеном HAI одговарају у 76%, пацијенти са умереним HAI одговарају у 50% случајева постижу SVR (није било пацијената са озбиљним степеном HAI) (174).

Међутим, разлика у активности антиоксидативних ензима пре и после терапије показала је статистички значајно повећање између пацијената који су постигли и који нису постигли SVR, за GPx и CAT али не и за SOD. Тиме смо уврдили да се антиоксидативни статус побољшава пре свега на рачун GPx и CAT. То значи да се снижава вредност H_2O_2 и да долази до деблокаде ензима.

Пошто смо издвојили групу пацијената који нису постигли SVR, упоређивали смо активности испитиваних антиоксидативних ензима као и поменутих осталих биохемијских параметара. Утврђено је да се код ове групе активност SOD, CAT и GPx није значајно променила, нити вредност осталих резултата биохемијских анализа укључујући и аминотрансферазе. Супротно њима, код пацијената који су постигли SVR, дошло је до статистички значајне промене у активностима антиоксидативних ензима, аминотрансфераза, GGT и hsCRP. Поменута промена ALT пре и после терапије код пацијената који су постигли SVR као и да се анализом активности ALT може предвидети исход терапије је већ утврђена чињеница. Ово говори у прилог базичној антиоксидативној активности антиоксидативних ензима као могућем фактору предикције SVR (175, 176). У доступној страниј литератури нема података о вези између трајања инфекције и постизања SVR, које бисмо упоредили са нашим резултатима. Доказана је повезаност старијег годишта са непостизањем SVR. Старије годиште не мора да значи и дуго трајање инфекције (које се такође доводи у везу са непостизањем SVR) (177). Резултати српских хепатолога указују да је старост болесника изнад 40 година, у тренутку биопсије јетре, у позитивној корелацији са степеном фиброзе. Из тога је изведен закључак да је дужина трајања хроничне ХЦВ инфекције од пресудног значаја за развој цирозе јетре (6). Код наших пацијената нема статистички значајне разлике у антиоксидативном статусу пацијената са дужим у поређењу са пацијентима са краћим трајањем инфекције. Генерално говорећи, у многим неинфективним хроничним болестима, трајање болести прати и повишени ниво оксидативног стреса, али с обзиром на различите патогенетске принципе, директно поређење са ХХЦ би било необјективно (178).

6.7. Активност антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на генотип вируса

Генотип вируса је значајан предиктивни фактор у процени брзине напредовања болести (179).

Најчешћа инфекција у Србији је са генотипом 1 (63%), затим са генотипом 3 (19.7%). Ређе су инфекције са генотипом 2 (6.7%) и генотипом 4 (4.6%). Мешане инфекције, са два или три генотипа, доказане су код 6% инфицираних. Болесници са

генотипом 1 су значајно старији (>40 година), док су болесници инфицирани генотипом 3 и 4 чешће млађе особе (<40 година). У резултатима светских експерата из области хепатологије тврди се да болесници заражени генотипом 1b брже развију цирозу јетре и имају већи ризик, и да за краћи временски период, развију ХЦЦ. Резултати испитивања српских пацијената са ХХЦ ипак указују да генотипови ХЦВ немају утицај на брзину прогресије болести, те да је заступљеност генотипа 3 била значајна (>30%) и код болесника са цирозом јетре. Једино је генотип 1b био у корелацији са степеном фиброзе (6).

Најважнији прогностички фактор постизања SVR, пре почетка терапије јесте генотип вируса. Генотипи 1 и 4 показују знатно нижу стопу постизања SVR у односу на генотипе 2 и 3. Захваљујући томе, формиран је и протокол стандардног трајања терапије, тако да се генотип 1 и 4 третирају 48 недеља, а генотип 2 и 3 се лече 24 недеље. Најчешће сагледавање клиничких и лабораторијских карактеристика болести као и процена одговора на терапију врши се збирним разматрањем генотипа 1 и 4, спрам генотипа 2 и 3 (180). Ове, генотипом условљене, разлике у одговору на терапију проистичу из разлика у експресији IL28B гена на хромозому 19, који кодира тип III интерферона (75).

Већина аутора истиче да најбољи одговор на терапију дају генотипови 2 и 3 ХЦВ (већи од 50%) наспрам 1 и 4 (мањи од 50%), што је потврђено и у свакодневној пракси (181, 182). Пацијенти инфицирани генотипом 2 или 3 имају четвороструко већу шансу да постигну SVR од пацијената са генотипом 1 (183). Резултати демографских и клиничко-лабораторијских карактеристика ове две, најчешће испитиване, групе генотипа у складу су са нашим (старији су били испитаници са генотипом 1 и 4; са већим просечним НАI скором (и у свету и код нас), без разлике у односу на прогресију фиброзе (подударно са резултатима српских аутора), без разлике у односу на трајање болести (у складу са резултатима ван територије Србије), без разлике у односу на пол (и у свету и код нас) (6, 180, 181, 182).

Код наших испитаника са ХХЦ, ХЦВ генотипа 1 и 4, постоји статистички значајно повећање активности SOD, CAT, GPx и аминотрансфераза ($p < 0.001$). У мањој мери, али такође статистички значајно промењене су активности GGT ($p = 0,024$), AF ($p = 0,032$) и нивои hsCRP ($p = 0,007$). Изгледа да се антивирусном терапијом не смањује степен инфламације у мери адекватној побољшању антиоксидативне активности. Код пацијената генотипа 2 и 3 такође долази очекивано до изражене статистички значајне промене активности антиоксидативних ензима, аминотрансфераза и GGT ($p < 0.001$),

док је промена hsCRP статистички мање значајности ($p=0,01$). Овај резултат је неочекиван, јер је то група пацијената који постижу у већем проценту SVR, па би се могло претпоставити да ће се терапијом смањити инфламација, тј. њен маркер, hsCRP. Подаци из литературе показују да су нижи нивои GGT код пацијената који су постигли SVR у односу на оне који нису постигли SVR, али само код оних инфицираних генотипом 1, док код осталих генотипова није уочена та правилност (183).

Код пацијената са генотипом 1, оксидативни стрес убрзава прогресију процеса фиброзе јетре. Нема радова који пореде ове две групе (генотипе 2 и 3 спрам генотипа 1 и 4) (184). Када се упореде ове две групе пацијената, прва генотипова 2 и 3, и друга, генотипова 1 и 4, уочава се изражено статистички значајно мања активност антиоксидативних ензима код групе генотипа 1 и 4, пре терапије ($p<0.001$), сем CAT, чија је промена нешто мање статистички значајна ($p=0,01$).

У раду Ебеида МЕС и аутора (185) који се баве оксидативним стресом између различитих ХЦВ генотипова, није доказана статистички значајна разлика у активности SOD између генотипова 2, 3 и 4, али велика мана истраживање је што недостаје генотип 1. Описано је и значајно смањење хепатичног, плазматског и лимфоцитног GSH код пацијената инфицираних ХЦВ генотипа 1b. Оксидативни стрес ови аутори наводе и као могући прогностички маркер у предвиђању исхода терапије као и процени прогресије болести (93).

Када се упореде активности ових ензима између поменутих групација пацијената, уочава се статистички значајна разлика у активности сва три ензима после терапије (SOD, $p=0,003$; GPx, $p=0,002$; CAT, $p=0,01$).

Резултати анализе активности антиоксидативних ензима између две поменуте групе генотипова а у односу на постигнут SVR могу бити основа за предвиђање успеха терапије. Пацијенти група генотипова 1 и 4 који су постигли SVR јесу и значајно променили активност сва три антиоксидативна ензима после терапије. Пацијенти групе 1 и 4 који нису постигли SVR не мењају значајно активност ниједног од поменутих ензима. Сви пацијенти групе генотипова 2 и 3 су постигли SVR, и код њих се такође значајно променила активност сва три ензима пре и после терапије а није било пацијената из ове групе са непостигнутим SVR за упоређење. Ипак, из статуса да је постигнут SVR не проистиче обавезно и исти антиоксидативни капацитет без обзира на генотип. Упоређујући групу пацијената са генотипом 2 и 3 који су постигли SVR може се уочити да имају статистички значајно вишу активност два антиоксидативна ензима и то SOD и GPx у односу на групу пацијената са генотипом 1 и 4 који су

постигли SVR. Интересантно је да антиоксидативни капацитет у погледу CAT исти за обе групе генотипова који су постигли SVR и ту можда треба тражити "дијагностички ослонац" у предвиђању успеха терапије. Овај податак је проверен кроз статистичке моделе за предиктивну вредност (видети у поглављу Резултати и у поглављу Дискусија – Антиоксидативни ензими као предиктивни фактор SVR њихова сензитивност и специфичност) с обзиром на то да можда значи и мању сензитивност CAT (186).

6.8. Активност антиоксидативних ензима и биохемијских параметара евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на степен фиброзе јетре

Анализирајући резултате испитивања антиоксидативног статуса и испитиваних биохемијских показатеља, према степену фиброзе, пре и после терапије, утврдили смо чињенице које би могле да говоре о динамици испитиваних параметара током хистолошке прогресије болести. У првом стадијуму фиброзе, са великом и очекиваном статистичком значајношћу ($p < 0.001$) после терапије је повећана активност антиоксидативних ензима и аминотрансфераза; нешто мањом ($p < 0.05$) активност GGT и ниво hsCRP, мада су били и остали у референтном опсегу. Може се закључити да је степен инфламације постојао, мада не у довољној мери да превазиђе референтну вредност, а да је повећање нивоа запаљења заустављено комбинованом антивирусном терапијом. Интересантно је да се и број тромбоцита, у оба случаја у границама нормалних вредности, статистички значајно повећао ($p < 0.05$), за шта нема адекватног објашњења у доступној литератури. Антиоксидативни статус и активност трансаминаза се у истој мери мења и код пацијената са степеном фиброзе 2, слична је промена GGT ($p = 0.01$), али изгледа да антивирусна терапија не утиче на ниво инфламације представљен hsCRP-ом. Из тога се може претпоставити да је од круцијалног значаја увођење антивирусне терапије на самом почетку болести, док се може утицати на смањење инфламације, која је у основи патогенезе ХХЦ, и у неодвојивој вези са покретањем оксидативног стреса. Ово правило потврђује се анализом трећег и четвртог степена фиброзе, где се статистичка значајност побољшања антиоксидативног статуса све више смањује са хистолошком прогресијом све до границе са статистички незначајном променом (CAT $p < 0.01$ па $p = 0.043$; SOD $p < 0.05$ па без статистички значајне промене; GPx $p = 0.002$ те $p = 0.035$). Аминотрансферазна

активност се не мења статистички значајно у трећем и четвртом стадијуму фиброзе. Вредност hsCRP се у четвртом стадијуму фиброзе, тј. цирозе мења са статистичком значајношћу после примене антивирусне терапије, што може значити да се у овом стадијуму, чији је крајњи исход декомпензација, процес инфламације поново „разбуктава“. Примена антивирусне терапије у стадијуму цирозе јетре у ХХЦ има за циљ да заустави даљу прогресију болести, декомпензацију и појаву ХЦЦ. Пошто болест јетре узрокована ХЦВ напредује кроз стадијуме фиброзе, уопштено говорећи, инфламација је прекурсор фиброзе. Напредовањем фиброзе предвиђа се и прогресија у иреверзибилно обољење јетре. Присуство тзв. *bridging* фиброзе или цирозе значајно смањује очекивану стопу одговора на антивирусну терапију. Пацијенти са "млађом" фиброзом боље одговарају на терапију интерфероном и рибавирином у поређењу са пацијентима са одмаклом фиброзом и цирозом. Са друге стране, пацијенти са нижим стадијумом фиброзе вероватно неће показати даљу хистолошку прогресију обољења за разлику од пацијената са напредовалом фиброзом или цирозом, при чему је дужина трајања инфекције иста, стога је незахвално дискутовати о најпогоднијим кандидатима за терапију (187).

Упоређивањем демографских карактеристика пацијената подељених у четири групе у односу на степен фиброзе, утврдили смо да је група пацијената са цирозом (степен фиброзе 4) статистички значајно старија у односу на групу првог и другог степена фиброзе (за обе $p < 0.001$) (6). Активност сва три антиоксидативна ензима није се разликовала статистички значајно између свих испитиваних група подељених по степену фиброзе, посматрано и пре, као и после терапије. Може се рећи да је степен антиоксидативне заштите испољен у истој мери, без обзира на хистолошку прогресију болести.

6.9. Базичне и посттерапијске активности антиоксидативних ензима и биохемијски параметри евалуације хроничног хепатитиса Ц у односу на хсЦРП

Као што је поменуто, системска инфламација и оксидативни стрес леже у основи патогенезе ХХЦ. Настанак обољења и прогресија су резултат директне регулације ћелијског метаболизма и путева ћелијске сигнализације од стране вирусних протеина као и индиректна последица одговора домаћина на ХЦВ инфекцију,

укључујући инфламаторне одговоре проистекле из имунског препознавања вируса (188). Плазматски цитокин, IL-6, кога углавном производе циркулишуће и периферне ћелије индукује хепатичну синтезу CRP, главног реактанта акутне фазе (189). У циљу утврђивања разлика у клиничко лабораторијским карактеристикама код пацијената у односу на ниво повишења hsCRP и те објашњења промена степеном повећања системске инфламације, поделили смо испитанике у две групе, према вредности већој или мањој од 1 mg/L. Анализом биохемијских параметара пре терапије, присуство стеатозе се издваја са статистичком значајношћу ($p < 0.001$), као и GGT ($p = 0.021$) и ALT ($p = 0.037$) и снижен ниво тромбоцита ($p = 0.048$) на граници испољавања статистичке значајности. Неочекивано, активност антиоксидативних ензима пре терапије није била статистички значајно мања код пацијената са већом вредношћу hsCRP. Дискутабилно је да ли повишења hsCRP, настанак стеатозе и повишену активност ALT и GGT треба посматрати у контексту инфламације изазване ХЦВ инфекцијом, пошто су исте карактеристике утврђене и код ХЦВ негативних пацијената са неалкохолним стеатохепатитисом (190). У сваком случају, важан је и податак да hsCRP може бити маркер напредовања стетозе јетре, јер стеатоза, сама по себи, доприноси прогресији фиброзе јетре. Сматра се да је генотип 3 ХЦВ чешће удружен са настанком стеатозе јетре. *In vitro* студије и модел на трансгеничном мишу предлажу да ХЦВ core протеин, али код ХЦВ генотипа 1, индукује акумулацију липида у паренхиму јетре. Доказано је и да након антивирусног третмана, долази до регресије стеатозе настале услед дејства ХЦВ, за разлику од стеатозе проистекле од домаћина као фактора (191). Адекватно интерпретацији пре комбиноване антивирусне терапије, можемо објаснити и аналогне резултате након терапије. Важан је и податак да се hsCRP доводи у директну статистичку корелацију са одговором на терапију пегилованим интерфероном и рибавирином, чиме се потврђује антиинфламаторно дејство поменуте комбиноване терапије у ХХЦ (126).

6.10.Базична активност антиоксидативних ензима у односу на базични ниво ХЦВ РНК

Корелационом анализом базичних вредности SOD, GPx и CAT са базичним вирал лоадом, тј. нивоом ХЦВ РНК, добили смо резултате који не говоре у прилог истом патогенетском механизму у настанку и прогресији ХХЦ. За сва три ензима

постоји технички негативна корелација, што би хипотетички могло значити да виши базични вирал лоад јесте у вези са нижим антиоксидативним статусом. Међутим, коефицијент корелације је исувише низак да би нас упутио на јединствени механизам. Штавише, за GPx и CAT вредност коефицијента детерминације је испод прага статистичке значајности ($p > 0,05$), за разлику од SOD ($p < 0,05$). Поменутој статистичкој значајности вероватно индиректно доприноси неки од елемената патогенетског механизма у ХХЦ који је у вези са SOD.

6.11. Антиоксидативни ензими као предиктивни фактор стабилног вирусолошког одговора и њихова сензитивност и специфичност

Сматра се да у ХХЦ оксидативни стрес може бити предиктивни фактор исхода хепатопротективне терапије као и праћења прогресије болести (93). Такође, може учествовати у развоју стеатозе јетре и прогресији у фиброзу (192).

Контрадикторни су резултати истраживања која испитују везу ХЦВ вирал лоада, оксидативног стреса и антиоксидативне терапије. Има аутора који су у *in vitro* испитивањима доказали чак супресивно дејство RVK на репликацију вируса (97). С друге стране, има података да ниво прооксиданаса позитивно корелира са *viral loadom* (165). Може се наићи на резултате истраживања која тврде да различити биљни и витамински антиоксиданси дају ефекте на смањење *viral loada* (193) али је далеко већи број радова који оспоравају ефекте било које друге терапије, сем оне прихваћене званичним ставовима те да биљни хепатопротективни препарати могу бити само придодати стандардној (194).

Претерапијски предиктори могу бити корисни у предвиђењу ефикасности антивирусне терапије, мада нису довољно прецизни да би се донела одлука о избору терапије на индивидуалном нивоу. Многи клиничари се не би ослонили на избор терапијског режима заснован само на претерапијским параметрима. Са друге стране, непожељно је подвргнути пацијента дуготрајној, потенцијално токсичној и скупој терапији а да је шанса за постизање SVR веома мала. Из тог разлога се испитује подобност различитих базичних и раних терапијских биохемијских и вирусолошких параметара (195).

Многе студије су показале да тестови функције јетре, нарочито аминотрансферазна активност нису поуздан предиктор SVR. Иако се брза

нормализација серумских аминотрансфераза обично виђа код пацијената који постигну SVR, корелација између овог феномена и SVR није довољно висока да би се сматрао предиктором на индивидуалном нивоу. Неке прелиминарне и мале студије указале су на могућност да TNF α или интерлеукини могу бити предиктивни фактори. Упркос томе, њихов предиктивни потенцијал не превазилази предиктивну моћ аминотрансфераза. Најновија истраживања указују да вирусна кинетика током првих недеља терапије може бити најбољи предиктор SVR. Концепт раног вирусолошког одговора, тј. EVR, дефинисаног као недектебилност или пад од $>2 \log_{10}$ у односу на базични ниво ХЦВ РНК, у четвртој или дванаестој недељи терапије, потврђен је као поуздан у процени постизања SVR. Позитивне предиктивне вредности, тј. шанса да се без грешке утврди пацијент који ће одговорити на терапију, рангирају од 50% до 80%, док негативне предиктивне вредности генерално прелазе 90%. Из тога произилази да одлука о наставку или прекиду терапије у односу на EVR (196).

Из резултата нашег истраживања утврђено је да високе вредности viral loada и ниже вредности антиоксидативних ензима (ниво ХЦВ РНК већи од 2 милиона IU/mL, активност SOD <600 U/gHb, и активност CAT $<4,5$ U/gHb $\times 10^4$) могу бити предиктивни фактори неуспеха терапије.

Такође смо утврдили да је GPx најбољи дијагностички маркер у процени успеха терапије, мада и SOD и CAT јесу добри маркери. Супероксид дизмутаза и GPx имају високу и специфичност (100% оба) и сензитивност (редом 93.5% и 97.8%), а CAT има нешто нижу сензитивност (71.7%) уз максималну специфичност. У претходно приказаним резултатима и дискусији (резултати корелационе анализе ишли су у прилог оксидативног стреса као иницијатора патогенезе ХХЦ) једино је GPx негативно корелирао са AST и ALT после терапије. С друге стране, анализа ROC криве издвојила је овај ензим као најсензитивнији у праћењу успеха терапије, можда јер је његова снижена активност последица оштећења јетре.

С обзиром на то да се у савременим истраживањима настоји наћи модел који би укључио што више елемената као предиктивних фактора успеха терапије, претерапијских као и из ранијих етапа терапије (197), укључивање SOD, GPx и CAT могао би допринети што тачнијој процени потенцијалног респондера на терапију. У истраживању из 2013, IL-6 се издвојио као независни предиктор одговора на комбиновану антивирусну терапију ХХЦ. Веза између вредности IL-6 и одговора на терапију се објашњава активацијом STAT3 фосфорилацијом у хепатичким стелатним ћелијама те улогом у њиховом преживљавању и пролиферацији. Активација STAT3 је

праћена индукцијом различитих антивирусних и проапоптотичких гена који доприносе антивирусним и антитуморским активностима IFN алфа у јетри човека (197) а те порастом антиоксидативног статуса (158) .

7. Закључци

На основу резултата спроведених истраживања можемо закључити следеће:

1. Статистички су значајно нижи нивои активности антиоксидантних ензима (SOD, CAT, GPx) код пацијената са ХХЦ пре третмана у односу на контролну групу.
2. Пацијенти са ХХЦ по завршетку терапије имају статистички значајно вишу активност SOD, CAT, GPx у односу на активност истих пре започињања терапије.
3. Вредност антиоксиданата код пацијената са ХХЦ после терапије је и даље снижена у односу на групу здравих испитаника.
4. Пацијенти са ХЦВ генотипом 1 и 4 имају статистички значајно ниже нивое SOD, CAT, GPx у односу на пацијенте ХЦВ генотипа 2 и 3, пре терапије.
5. Пацијенти са ХЦВ генотипом 1 и 4 имају статистички значајно ниже нивое SOD, CAT, GPx у односу на пацијенте ХЦВ генотипа 2 и 3, после терапије.
6. Пацијенти вишег степена фиброзе јетре имају статистички значајно ниже нивое SOD, CAT, GPx у односу на пацијенте нижег степена фиброзе, пре терапије.
7. Пацијенти вишег степена фиброзе јетре имају статистички значајно ниже нивое SOD, CAT, GPx у односу на пацијенте нижег степена фиброзе, после терапије.
8. Пацијенти са ХХЦ који ће постићи SVR, имају статистички значајно више вредности SOD, CAT, GPx од пацијената који неће постићи SVR.
9. Ниво базичног viral loada негативно корелира са базичном активности антиоксидативних ензима, мада у недовољној мери да би се потврдио исти патогенетски принцип.
10. Постоји статистички значајна корелација између базичних и посттерапијских активности SOD, CAT, GPx, која би указала на исти патогенетски принцип настанка ХХЦ.
11. Поменути антиоксидативни ензими имају предиктивну вредност у процени постизања SVR, као и високу сензитивност и специфичност. Од значаја би било укључити базичне активности SOD, CAT, GPx у мултифакторијелни модел предикције исхода терапије ХХЦ.

12. Неочекивано, hsCRP издвојио се као параметар чије су вредности изван референтног опсега примећене код оболелих од ХХЦ са сниженим активностима антиоксидативних ензима. То је још један показатељ повезаности системске инфламације и оксидативног стреса у патогенези ХХЦ.

Овим истраживањем може се закључити да је код пацијената са ХХЦ присутан оксидативни стрес који се огледа у сниженим активностима ензима антиоксидативне заштите. Након комбиноване антивирусне терапије, за коју се у последње време сматра да има антиоксидативни потенцијал, долази до поновног успостављања антиоксидативног баланса. Резултати овог рада, сагледани истовремено са резултатима других аутора могу бити основа за: боље разумевање патогенетских механизма ХХЦ, предлог придруживања неких од антиоксидативних ензима антивирусној терапији, у циљу постизања бољег терапијског одговора, као и предлог за утврђивање што бољег предиктивног модела успеха терапије ХХЦ.

Литература

1. Alan Franciscus. A brief history of hepatitis C. Hepatitis C Support Project. http://www.hcvadvocate.org/hepatitis/factsheets_pdf/Brief_History_HCV_2006.pdf
2. Delarive J, Berger JP. Hepatitis C: from pathogenesis to treatment. *Schweiz Rundsch Med Prax* 1993; 82(45): 1278-83.
3. Inoue K, Yoshida M. Overview of hepatitis C virus from its discovery to now. *Rinsho Byori* 2001; 49(8): 733-40.
4. Simmonds P, Bukh J, Combet C, Deléage G, Enomoto N, Feinstone S, et al. Consensus proposals for an unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 2005; 42(4): 962-73.
5. Bukh J, Miller RH, Purcell RH. Biology and genetic heterogeneity of hepatitis C virus. *Clin Exp Rheumatol* 1995; 13 Suppl 13: S3-7.
6. Delić D. Hronični virusni hepatitis. U: Hronična C virusna infekcija. Zavod za udžbenike, Beograd, 2012.
7. Yu X, Qiao M, Atanasov I, Hu Z, Kato T, Lianq TJ, et al. Cryo-electron microscopy and three-dimensional reconstructions of hepatitis C virus particles. *Virology* 2007; 367(1): 126-34.
8. Walewski JL, Keller TR, Stump DD, Branch AD. Evidence for a new hepatitis C virus antigen encoded in an overlapping reading frame. *RNA* 2001; 7(5): 710-21.
9. Perz JF, Farrington LA, Pecoraro C, Hutin YJF, Armstrong GL. Estimated global prevalence of hepatitis C virus infection. 42nd Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America; Boston, MA, USA; Sept 30-Oct 3, 2004.
10. WHO. Global surveillance and control of hepatitis C. Report of a WHO Consultation organized in collaboration with the Viral Hepatitis Prevention Board, Antwerp, Belgium. *J Viral Hepat* 1999; 6: 35-47.

11. Cornberg M, Razavi HA, Alberti A, Bernasconi E, Buti M, Cooper C, et al. A systematic review of hepatitis C virus epidemiology in Europe , Canada and Israel. *Liver Int* 2011;31(Suppl 2):30-60.
12. Desenclos JC. Epidemiology of hepatitis C. *Revue du praticien* 2000; 50(10): 1066-70.
13. Law MG, Dore GJ, Bath N, Thompson S, Dolan K, Crofts N, et al. Modelling hepatitis C virus incidence, prevalence, and long term sequelae in Australia, 2001. *Int J Epidemiol* 2003; 32(5): 717-724.
14. Australian census, 2001, total population. <http://www.abs.gov.au/ausstats/abs%40census.nsf/ddc9b4f92657325cca256c3e000bdbaf/7dd97c937216e32fca256bbe008371f0!OpenDocument#CensusCounts> (accessed July 25, 2005).
15. Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, McQuillan GM, Gao F, Moyer LA. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med* 1999; 341(8): 556-62.
16. Ohshima S, Komatsu M, Nakane K, Meng XW, Goto T, Fujii T, et al . Iatrogenic GB virus C/hepatitis G virus infection in an area endemic for hepatitis C virus. *J Hosp Infect* 2000; 44(3): 179-85.
17. Puro V, Petrosillo N, Ippolito G, Aloisi MS, Bournis E, Rava L. Occupational hepatitis C virus infection in Italian health care workers. *Am J Public Health* 1995; 85(9): 1272-5.
18. Xia GL, Liu CB, Cao HL, Bi SL, Zhan MY, Su CA et al. Prevalence of hepatitis B and C virus infections in the general Chinese population: results from a nationwide cross-sectional seroepidemiologic study of hepatitis A, B, C, D, and E virus infections in China, 1992. *International Hepatology Communications* 1996; 5(1): 62-73.
19. Chowdhury A, Santra A, Chaudhury S, Dhali GK, Chaudhury S, Maity SG et al. Hepatitis C virus infection in the general population: a community-based study in West Bengal, India. *Hepatology* 2003; 37(4): 802-9.

20. Sulaiman HA, Julitasary , Sie A. Prevalence of hepatitis B and C viruses in healthy Indonesian blood donors. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1995; 89(2): 167-70.
21. Khattak MF, Salamat N, Bhatti FA, Qureshi TZ. Seroprevalence of hepatitis B, C and HIV in blood donors in northern Pakistan. *J Pak Med Assoc* 2002; 52(9): 398-402.
22. Frank C, Mohamed MK, Strickland GT, Lavanchy D, Arthur RR, Magder LS, et al. The role of parenteral antischistosomal therapy in the spread of hepatitis C virus in Egypt. *Lancet* 2000; 355(9207): 887-91.
23. Alter MJ, Hadler SC, Judson FN, Mares A, Alexander WJ, Hu PY. Risk factors for acute non-A non-B hepatitis in the United States and association with hepatitis C virus infection. *JAMA* 1990; 264(17): 2231-5.
24. Armstrong GL, Alter MJ, McQuillan GM, Margolis HS. The past incidence of hepatitis C virus infection: Implications for the future burden of chronic liver disease in the United States. *Hepatology* 2000; 31(3): 777-82.
25. Wasley A, Alter M. Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends. *Semin Liver Dis* 2001; 20(1): 1-16.
26. Garfein RS, Vlahov D, Galai N, Doherty MC, Nelson KE. Viral infections in short-term injection drug users: the prevalence of the hepatitis C, hepatitis B, human immunodeficiency, and human T-lymphotropic viruses. *Am J Public Health* 1996; 86(5): 655-61.
27. Des Jarlais DC, Diaz T, Perlis TE, Vlahov T, Maslow C, Latka M, et al. Variability in the incidence of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and hepatitis C virus infection among young injection drug users in New York City. *Am J Epidemiol* 2003; 157(5): 467-71.
28. Busch MP, Kleinman SH, Nemo GJ. Current and emerging infectious risks of blood transfusions. *JAMA* 2003; 289(8): 959-63.
29. Vandelli C, Renzo F, Romano L, Tisminetsky S, De Palma M, Stroffolini T, et al. Lack of evidence of sexual transmission of hepatitis C among monogamous couples: results of a 10-year prospective follow-up study. *Am J Gastroenterol* 2004; 99(5): 855-9.

30. Di Napoli A, Pezzotti P, Di Lallo D, Petrosillo N, Trivelloni C, Di Giulio S, et al. Epidemiology of hepatitis C virus among long-term dialysis patients: a 9-year study in an Italian region. *Am J Kidney Dis* 2006; 48(4): 629-37.
31. Delić D, Simonović J, Švirtlih N, Korać M, Urošević A, Fabri M, et al. Epidemiološke karakteristike hepatitis C infekcije u Srbiji. *Med Istraž* 2008; 42(2): 37-43.
32. Đekić J, Ilić S, Injac D, Rajčević S, Đurić P. Značaj dobrovoljnog poverljivog savetovanja i testiranja u dijagnostici infekcije virusom hepatitis C. *Med Data Rev* 2010; 2(3): 185-9.
33. Hoofnagle JH. Hepatitis C: the clinical spectrum of disease. *Hepatology* 1997; 26(3 Suppl 1): 15S-20S.
34. Chu CM, Yeh CT, Liaw YF. Fulminant hepatic failure in acute hepatitis C: increased risk in chronic carriers of hepatitis B virus. *Gut* 1999; 45(4): 613-7.
35. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2001; 345(1): 41-52.
36. Merican I, Sherlock S, McIntyre N, Dusheiko GM. Clinical, biochemical and histological features in 102 patients with chronic hepatitis C virus infection. *Q J Med* 1993; 86(2): 119-25.
37. Wang CS, Chang TT, Yao WJ, Chou P. Comparison of hepatitis B virus and hepatitis C virus prevalence and risk factors in a community-based study. *Am J Trop Med Hyg* 2002; 66(4): 389-93.
38. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet* 1997; 349(9055): 825-32.
39. Peters MG, Terrault NA. Alcohol use and hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36(5 Suppl 1): S220-5.
40. Harris HE, Ramsay ME, Andrews N, Eldridge KP, HCV National Register Steering Group. Clinical course of HCV infection during the first decade of infection: cohort study. *BMJ* 2002; 324(7355): 1-6.

41. Bellentani S, Pozzato G, Saccoccio G, Crovatto M, Croce LS, Mazzoran L, et al. Clinical course and risk factors of hepatitis C virus related liver disease in the general population: report from the Dionysos study. *Gut* 1999; 44(6): 874-80.
42. De Ledinghen V, Trimoulet P, Mannant PR, Dumas F, Champbenoit P, Baldit C, et al. Outbreak of hepatitis C virus infection during sclerotherapy of varicose veins: long-term follow-up of 196 patients (4535 patient years). *J Hepatol* 2007; 46(1): 19-25.
43. Sangiovanni A, Prati GM, Fasani P, Ronchi G, Romeo R, Manini M, et al. The natural history of compensated cirrhosis due to hepatitis C virus: A 17-year cohort study of 214 patients. *Hepatology* 2002; 43(6): 1303-10.
44. Planas R, Balleste B, Alvarez MA, Rivera M, Montoliu S, Galeras JA, et al. Natural history of decompensated hepatitis C virus-related cirrhosis. A study of 200 patients. *J Hepatol* 2004; 40(5): 823-30.
45. Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M, Kremers W, Therneau TM, Kosberg CL, et al. A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology* 2001; 33(2): 464-70.
46. Lucey MR, Brown KA, Everson GT, Fung JJ, Gish R, Keeffe EB, et al. Minimal criteria for placement of adults on the liver transplant waiting list: a report of a national conference organized by the American Society of Transplant Physicians and the American Association for the Study of Liver Diseases. *Liver Transpl Surg* 1997; 3(6): 628-37.
47. Fallahi P, Ferri C, Ferrari SM, Corrado A, Sansonno D, Antonelli A. Cytokines and HCV-related disorders. *Clin Dev Immunol* 2012; 2012: 468107.
48. Zignego AL, Ferri C, Pileri SA, Caini P, 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.
49. Agnello V, Abel G, Elfahal M, Knight GB, Zhanq QX. Hepatitis C virus and other Flaviviridae viruses enter cells via low-density lipoprotein receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96(22): 12766-71.

50. Germi R, Crance JM, Garin D, Guimet J, Lortat-Jacob H, Ruigrok RW, et al. Cellular glycosaminoglycans and low density lipoprotein receptor are involved in hepatitis C virus adsorption. *J Med Virol* 2002; 68(2): 206-15.
51. Scarselli E, Ansuini H, Cerino R, Roccasecca RM, Acali S, Filocamo G, et al. The human scavenger receptor class B type I is a novel candidate receptor for the hepatitis C virus. *EMBO J* 2002; 21(19): 5017-25.
52. Evans MJ, von Hahn T, Tscherne DM, Syder AJ, Panis M, Wolk B, et al. Claudin-1 is a hepatitis C virus co-receptor required for a late step in entry. *Nature* 2007; 446(7137): 801-5.
53. Ploss A, Evans MJ, Gaysinkaya VA, Panis M, You H, de Jong YP, et al. Human occluding is a hepatitis C virus entry factor required for infection of mouse cells. *Nature* 2009(7231); 457: 882-86.
54. Meertens L, Bertaux C, Dragic T. Hepatitis C virus entry requires a critical postinternalization step and delivery to early endosomes via clathrin-coated vesicles. *J Virol* 2006; 80(23): 11571-78.
55. Duvet S, Op de Beeck A, Cocquerel L, Wychowski C, Cacan R, Dubuisson J, et al. Glycosylation of the hepatitis C virus envelope protein E1 occurs posttranslationally in a mannosylphosphoryldolichol-deficient CHO mutant cell line. *Glycobiology* 2002; 12(2): 95-101.
56. Egger D, Wolk B, Gosert R, Bianchi L, Blum HE, Moradpour D, et al. Expression of hepatitis C virus proteins induce distinct membrane alterations including candidate viral replication complex. *J Virol* 2002; 76(12): 5974-84.
57. Gastaminza P, Cheng G, Wieland S, Zhong J, Liao W, Chisari FV, et al. Cellular determinants of hepatitis C virus assembly, maturation, degradation, and secretion. *J Virol* 2008; 82(5): 2120-9.
58. Boyer N, Marcellin P. Pathogenesis, diagnosis and management of hepatitis C. *J Hepatol* 2000; 32(Suppl 1): 98-112.

59. Huang L, Koziel MJ. Immunology of hepatitis C virus infection. *Curr Opin Gastroenterol* 2000; 16(6): 558-64.
60. Gonzalez-Peralta RP, Davis GL, Lau JY. Pathogenetic mechanisms of hepatocellular damage in chronic hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 1994; 21(2): 255-9.
61. Lerat H, Berby F, Trabaud MA, Vidalin O, Major M, Trepo C, et al. Specific detection of hepatitis C minus strand RNA in haematopoietic cells. *J Clin Invest* 1996; 97(3): 845-51.
62. Farci P, Alter HJ, Wong DC. Prevention of hepatitis C virus infection in chimpanzees after antibody-mediated in vitro neutralization. *Proc Natl Acad USA* 1994; 91(16): 7792-6.
63. Hijikata M, Kato N, Ootsuyama Y, Nakagawa M, Ohkoshi S, Shimotohno K. Hypervariable regions in the putative glycoprotein of hepatitis C virus. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 175(1): 220-8.
64. Neumann AU, Lam NP, Dahari H, Gretch DR, Wiley TE, Layden TJ, et al. Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon-alpha therapy. *Science* 1998; 282(5386): 103-7.
65. Napoli J, Bishop GA, McGuinness PH, Painter DM, McCaughan GW. Progressive liver injury in chronic hepatitis C infection correlates with increased intrahepatic expression of Th1-associated cytokines. *Hepatology* 1996; 24(4): 759-65.
66. Zeuzem S, Franka A, Lee JH, Herrmann G, Ruster B, Roth WK. Phylogenetic analysis of hepatitis C virus isolates and their correlation to viremia, liver function tests, and histology. *Hepatology* 1996; 24(5): 1003-9.
67. Wiley TE, McCarthy M, Breidi L, Mc Carthy M, Layden TJ. Impact of alcohol on the histological and clinical progression of hepatitis C. *Hepatology* 1998; 28(3): 805-9.
68. Omata M, Kanda T, Yu ML, Yokosuka O, Lim SG, Jafri W, et al. APASL consensus statements and management algorithms for hepatitis C virus infection. *Hepatol Int* 2012; 6(2): 409-35.

69. Massard J, Ratziu V, Thabut D, Moussalli J, Lebray P, Benhamou Y, et al. Natural history and predictors of disease severity in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2006; 44(1Suppl): S19-24.
70. Veldt BJ, Heathcote EJ, Wedemeyer H, Reichen J, Hofmann WP, Zeuzem S, et al. Sustained virologic response and clinical outcomes in patients with chronic hepatitis C and advanced fibrosis. *Ann Intern Med* 2007; 147(10): 677-84.
71. McHutchinson JG, Everson GT, Gordon SC, Jacobson IM, Sulkowski M, Kauffman R, et al. Telaprevir with peginterferon and ribavirin for chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2009; 360(18): 1827-38.
72. Manns M, Zeuzem S, Sood A, Lurie Y, Cornberg M, Klinker H, et al. Reduced dose and duration of peginterferon alfa-2b-weight based ribavirin in European and Asian genotype 2 and 3 chronic hepatitis C patients (Redd 2/3 Trial). *J Hepatol* 2009; 50(Suppl 1):S59.
73. Reddy KR. Development and pharmacokinetics and pharmacodynamics of pegylated interferon alfa-2a (40 kD). *Semin Liver Dis* 2004; 24 Suppl 2: 33-8.
74. Berg T, Weich V, Teuber G, Klinker H, Moller B, Rasenack J, et al. Individualized treatment strategy according to early viral kinetics in hepatitis C virus type 1-infected patients. *Hepatology* 2009; 50(2): 369-77.
75. Ge D, Fellay J, Thompson AJ, Simon JS, Shianna KV, Urban TJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009; 461(7262): 399-401.
76. Thomas DL, Thio CL, Martin MP, Qi Y, Ge D, O'Huigin C, et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature* 2009; 461(7265): 798-801.
77. Afdhal N, Reddy RK, Nelson DR, Lawitz E, Gordon SC, Schiff E. Ledipasvir and sofosbuvir for previously treated HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2014; 370(16): 1483-93.
78. European Association for the Study of Liver. EASL Recommendations on treatment of Hepatitis C 2015. *J Hepatol* 2015; 63: 199-236.

79. Feld JJ, Hoofnagle JH. Mechanism of action of interferon and ribavirin in treatment of hepatitis C. *Nature* 2005; 436(7053): 967-72.
80. De Melo CE, de Araujo ESA, Barone AA. Basic aspects of the treatment for hepatitis C: mechanisms of action of interferon alpha and ribavirin and the bases of individualization. *Braz J Infect Dis* 2007; 11(5) Suppl 1: 43-44.
81. Thomas E, Feld JJ, Li Q, Hu Z, Fried MW, Lianq TJ. Ribavirin potentiates interferon action by augmenting interferon-stimulated gene induction in hepatitis C virus cell culture models. *Hepatology* 2011; 53(1): 32-41.
82. Guo CH and Chen PC (2012). Mitochondrial Free Radicals, Antioxidants, Nutrient Substances, and Chronic Hepatitis C, Antioxidant Enzyme, Prof. Mohammed Amr El-Missiry (Ed.), ISBN: 978-953-51-0789-7, InTech, DOI: 10.5772/51315. Available from: <http://www.intechopen.com/books/antioxidant-enzyme/mitochondrial-free-radicals-antioxidants-nutrient-substances-and-chronic-hepatitis-c>
83. Venturini D, Simao ANC, Barbosa DS, Lavado EL, Narciso VES, Dichi I, et al. Increased oxidative stress, decreased total antioxidant capacity, and iron overload in untreated patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci* 2010; 55(4): 1120-7.
84. Farias MS, Budni P, Ribeiro CM, Parisotto EB, Santos CEI, Dias JF, et al. Antioxidant supplementation attenuates oxidative stress in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterol Hepatol* 2012; 35(6): 386-94.
85. Gretton S, Hughes M, Harris M. Hepatitis C virus RNA replication is regulated by RAS-Erk signalling. *J Gen Virol* 2010; 91(Pt 3): 671-80.
86. Matsuzaki K, Murata M, Yoshida K, Sekimoto G, Uemura Y, Sakaida N, et al. Chronic inflammation associated with hepatitis c virus infection perturbs hepatic transforming growth factor beta signalling, promoting cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2007; 46(1): 48-57.
87. Parola M, Robino G. Oxidative stress-related molecules and liver fibrosis. *J Hepatol* 2001; 35(2): 297-306.

88. Farinati F, Cardin R, Bortolami M, Burra P, Russo FP, Rugge M, Guido M, et al. Hepatitis C virus: from oxygen free radicals to hepatocellular carcinoma. *J Viral Hepat* 2007; 14(12): 821-9
89. Burdette D, Haskett A, Presser L, McRae S, Iqbal J, Waris G. Hepatitis C virus activates interleukin-1 β via caspase-1-inflammasome complex. *J Gen Virol* 2012; 93(Pt 2): 235-46.
90. Chang S, Dolganiuc A, Szabo G. Toll-like receptors 1 and 6 are involved in TLR2 mediated macrophage activation by hepatitis C virus core and NS3 proteins. *J Leukoc Biol* 2007; 82(3): 479-87.
91. Ozenirler S, Erkan G, Gulbahar O, Bostankolu O, Ozbas Demirel O, Bilgihan A et al. Serum levels of advanced oxidation protein products, malonyldialdehyde, and total radical trapping antioxidant parameter in patients with chronic hepatitis C. *Turk J Gastroenterol* 2011; 22(1): 47-53.
92. Mahmood S, Kawanaka M, Kamei A, Izumi A, Nakata K, Niiyama G, et al. Immunohistochemical evaluation of oxidative stress markers in chronic hepatitis C. *Antioxid Redox Signal* 2004; 6(1): 19-24.
93. Choi J, Ou JH. Mechanisms of liver injury.III. Oxidative stress in the pathogenesis of hepatitis C virus. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290(5): G847-51.
94. Korenaga M, Wang T, Li Y, Sowalter LA, Chan T, Sun J, et al. Hepatitis C virus core protein inhibits mitochondrial electron transport and increases ROS production. *J Biol Chem* 2005; 280(45): 37481-8.
95. Naas T, Ghorbani M, Alvarez-Maya I, Lapner M, Kothary R, De Repentigny Y, et al. Characterization of liver histopathology in a transgenic mouse model expressing genotype 1a hepatitis C virus core and envelope proteins 1 and 2. *J Gen Virol* 2005; 86(Pt 8): 2185-96.
96. Tardiff KD, Waris G, Siddiqui A. Hepatitis C virus, ER stress and oxidative stress. *Trends Microbiol* 2005; 13:159-63.
97. Waris G, Siddiqui A. Hepatitis C virus stimulates the expression of cyclooxygenase-2 via oxidative stress: role of prostaglandin E2 in RNA replication. *J Virol* 2005; 79(15): 9725-34.

98. Abdalla MY, Ahmad IM, Spitz DR, Schmidt WN, Britigan BE. Hepatitis C virus-core and non structural proteins lead to different effects on cellular antioxidant defenses. *J Med Virol* 2005; 76(4): 489-97.
99. Choi J, Lee KJ, Zheng Y, Yamaga AK, Lai MMC, Ou JH. Reactive oxygen species suppress hepatitis C virus RNA replication in human hepatoma cells. *Hepatology* 2004; 39(1): 81-9.
100. Emerit J, Samuel D, Pavio N. Cu-Zn super oxide dismutase as a potential antifibrotic drug for hepatitis C related fibrosis. *Biomed Pharmacother* 2006; 60(1): 1-4.
101. Tai D, Tsai SL, Chen YM, Chuan YL, Peng CY, Sheen IS, et al. Activation of nuclear factor kappa B in hepatitis C virus infection: implications for pathogenesis and hepatocarcinogenesis. *Hepatology* 2000; 31(3): 656-64.
102. Medvedev R, Ploen D, Hildt E. HCV and Oxidative Stress: Implications for HCV Life Cycle and HCV-Associated Pathogenesis. *Oxid Med Cell Longev* 2016; Article ID 9012580, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/9012580>
103. Bošković M, Vovk T, Plesničar BK, Grabnar I. Oxidative stress in schizophrenia. *Curr Neuropharmacol* 2011; 9(2): 301–12.
104. Köse K, Yazici C, Cambay N, Aşcıoğlu O, Doğan P. Lipid peroxidation and erythrocyte antioxidant enzymes in patients with Behçet's disease. *Tohoku J Exp Med* 2002 ; 197(1): 9-16.
105. Beutler E. Catalase. In: *Cell metabolism manual and biochemical method*. Beutler E. (ed). Grune and Stratton, New York, 1982: 105-6.
106. Fabri M, Klašnja B, Ružić M, Pobor M, Preveden T. Epidemiološke karakteristike hepatitis C virusne infekcije anti-HCV pozitivnih osoba lečenih u Klinici za infektivne bolesti Novi Sad. *Acta Infectol Iugoslav* 2003; 8(1): 19-24.
107. Raptopoulou M, Touloumi G, Tzourmakliotis D, Nikolopoulou G, Dimopoulou M, Giannoulis G. Significant epidemiological changes in chronic hepatitis C infection: results of the nationwide HEPNET-GREECE cohort study. *Hippokratia* 2011; 15(1): 26-31.

108. Karaca C, Cakaloglu Y, Demir K, Ozdil S, Kaymakoglu S, Badur S. Risk factors for the transmission of hepatitis C virus infection in the Turkish population. *Dig Dis Sci* 2006; 51(2): 365-9.
109. Nelson PK, Mathers BM, Cowie B, Hagan H, Des Jarlais D, Horniyak D, et al. Global epidemiology of hepatitis B and hepatitis C in people who inject drugs: result of systematic reviews. *Lancet* 2011; 378(9791): 571-83.
110. Healey CJ, Chapman RWG, Fleming KA. Liver histology in hepatitis C infection: a comparison between patients with persistently normal or abnormal transaminases. *Gut* 1995; 37: 274-8.
111. Altiparmak E, Saritas U, Altintas E, Tureyen A, Oguz D, Sahin T, et al. Relationship between histological damage, viral load and serum transaminase levels in patients with chronic hepatitis C. *Turkish Journal of Gastroenterology* 2001; 12(3): 185-8.
112. Nožić D, Stamenković G, Bojić I, Dimitrijević J, Krstić Lj. Uloga različitih genotipova virusa u progresiji hroničnog hepatitisa C. *Vojnosanit Pregl* 2002; 59(2): 141-5
113. Mita E, Hayashi N, Nanazawa Y, Hagiwara H, Ueda K, Kasahara A, et al. Hepatitis C virus genotype and RNA titter in the progression of type C chronic liver disease. *J Hepatol* 1994; 21(3): 468-73.
114. Stamenkovic G, Zerjav S, Velickovic ZM, Krtolica K, Samardzija VL, Jeumovic L, et al. Distribution of HCV genotypes among risk groups in Serbia. *Eur J Epidemiol* 2000; 16(10): 949-54.
115. 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): 415-9.
116. Seme K, Poljak M, Lesnicar G, Brinovec V, Stepec S, Koren S. Distribution of hepatitis C virus genotypes in Slovenia. *Scand J Infect Dis* 1997; 29(1): 29-31.
117. Kleter B, Brouwer JT, Nevans F, van Doorn Lj, Elewaut A, Versieck J, et al. Hepatitis C virus genotypes: epidemiological and clinical associations. *Liver* 1998; 18(1): 32-8.

118. Kobayashi M, Tanaka E, Sodeyama T, Urushihara A, Matsumoto A, Kiyosawa K. the natural course of chronic hepatitis C: a comparison between patients with genotypes 1 and 2 hepatitis C viruses. *Hepatology* 1996; 23: 695-9.
119. Schijman A, Colina R, Mukomolov S, Kalinina O, Garcia L, Broor S, et al. Comparison of hepatitis C viral loads in patients with or without coinfection with different genotypes. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004; 11(2): 433-5.
120. Giannini EG, Rizzo D, Botta F, Chiarbonello B, Fasoli A, Malfatti F, et al. Validity and clinical utility of the aspartat aminotransferase-alanine aminotransferase ratio in assessing disease severity and prognosis in patients with hepatitis C virus related chronic liver disease. *Arch Intern Med* 2001; 163: 134-46
121. Levent G, Ali A, Ahmet A, Polat EC, Aytac C, Ayse E, et al. Oxidative stress and antioxidant defense in patients with chronic hepatitis C patients before and after pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin therapy. *J Transl Med* 2006; 4:25.
122. Hu KQ, Yang H, Lin YC, Lindsay KL, Redeker AG. Clinical profiles of chronic hepatitis C in a major county medical center outpatient setting in united states. *Int J Med Sci* 2004; 1(2): 92-100
123. Marcellin P. Hepatitis C: the clinical spectrum of the disease. *J Hepatol* 1999; 31(Suppl 1): 9-16.
124. Streiff MB, Mehta S, Thomas DL. Peripheral blood count abnormalities among patients with hepatitis C in the United States. *Hepatology* 2002; 35(4): 947-52.
125. Silva IS, Ferraz ML, Perez RM, Lanzoni VP, Figueiredo VM, Silva AE. Role of gamma-glutamyl transferase activity in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19(3): 314-8
126. Huang CF, Hsieh MY, Yang JF, Chen WC, Yeh ML, Huang CI, et al. Serum hs-CRP was correlated with treatment response to pegylated interferon and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C patients. *Hepatol Int* 2010; 4(3): 621-7.
127. Ozekinci T, Atmaca S, Akbayin H. Correlation of high sensitive C-reactive protein and hepatitis C virus RNA in anti-HCV positive sera. *Dicle Tip Dergisi* 2011; 38(2): 134-6.

128. Parana R, Schinoni MI, de Freitas LA, Codes L, Cruz M, Andrade Z, et al. Anti-Golgi complex antibodies during pegylated-interferone therapy for hepatitis C. *Liver Int* 2006; 26(9): 1148-54.
129. Aghemo A, Rumi MG, Colombo M. Pegylated IFN-alpha 2a and ribavirin in the treatment of hepatitis C. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2009; 7(8): 925-35.
130. De Maria N, Colantoni A, Fagioli S, Liu G-J, Rogers BK, Farinati F. Association between reactive oxygen species and disease activity in chronic hepatitis C. *Free Radic Biol Med* 1996; 21(3): 291-5.
131. Eduardo G, Luca M, Federica B. Liver iron accumulation in chronic hepatitis C patients without HFE mutations: relationships with histological damage, viral load and genotype and (alpha)- glutathione S-transferase levels. *Eur J Gastr Hepatol* 2001; 13(11): 1355-61.
132. Wiczowski A, Gawron K, Birkner E. Oxidative stress evaluation in chronic hepatitis C pathogenesis. *Przegl Lek* 2005; 62(7): 667-70.
133. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*, Oxford University Press, New York, 2007.
134. Ciriolo MR, Palamara AT, Incerpi S, Lafavia E, Bue MC, de Vito P, et al. Loss of GSH, oxidative stress, and decrease of intracellular pH as sequential steps in viral infection. *J Biol Chem* 1997; 272(5): 2700-8.
135. Farinati F, Cardina R, Degan P, De Maria N, Floyd RA, van Thiel DH, et al. Oxidative DNA damage in circulating leukocytes occurs as an early event in chronic HCV infection. *Free Radic Biol Med* 1999; 27(11-12): 1284-91.
136. Ivanov AV, Bartosch B, Smirnova OA, Isagulians MG, Kochetkov. HCV and oxidative stress. *Viruses* 2013; 5(2): 439-69.
137. Dittmar M, Knuth M, Beineke M, Epe B. Role of oxidative DNA damage and antioxidative enzymatic defence systems in human aging. *Open Anthropol J* 2008; 1 :38-45.
138. Mutlu-Turkoglu U, Ademoglu E, Turkoglu S, Badur S, Uysal M, Toker G. The effects of interferon-alpha on serum lipid peroxidation and total thiol content in patients with chronic active hepatitis c. *Res Commun Mol Pathol* 1997; 96(3): 357-61.

139. Larrea E, Beloqui O, Munoz-Navas MA, Civeira MP, Prieto J. Superoxide dismutase in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Free Radic Biol Med* 1998; 24(7): 1235-41
140. Karabulut AB, Sonmez E, Bayindir Y, Gozukara E. A comparison of erythrocyte superoxide dismutase and catalase activity in patients with hepatitis C infection. *Turk J Med Sci* 2002; 32(4): 313-6.
141. Pal S, Polyak S, Bano N, Qui WC, Carithers R, Shuhart M et al. Hepatitis C virus induces oxidative stress, DNA damage and modulates the DNA repair enzyme NEIL1. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25(3): 627-34.
142. Ming-Ju H, Yih-Shou H, Tzy-Yen C, Hui-Ling C. Hepatitis C virus E2 protein induce reactive oxygen species (ROS)-related fibrogenesis in the HSC-T6 hepatic stellate cell line. *J Cell Biochem* 2011; 112(1): 233-43.
143. Wang T, Campbell R, Yi M, Lemon S, Weinman S. Role of hepatitis C virus core protein in viral-induced mitochondrial dysfunction. *J Viral Hepatol* 2010; 17(11): 784-93.
144. Tsutsumi T, Matsuda M, Aizaki H, Moriya K, Mizoshi H, Fujie H et al. Proteomics analysis of mitochondrial proteins reveals overexpression of a mitochondrial protein chaperon, prohibitin, in cells expressing hepatitis C virus core protein. *Hepatology* 2009; 50(2): 378-86.
145. Dionisio N, Garcia-Mediavilla M, Sanchez-Campos S, Majano P, Benedicto I, Rosado J, et al. Hepatitis C virus NS5A and core proteins induce oxidative stress-mediated calcium signaling alterations in hepatocytes. *J Hepatol* 2009; 50: 872-82.
146. Weyemi U, Dupuy C. The emerging role of ROS-generating NADPH oxidase NOX4 in DNA-damage responses. *Mutat Res* 2012; 751(2): 77-81.
147. Avadhani NG, Sangar MC, Bansal S, Bajpai P. Bimodal targeting of cytochrome p450s to endoplasmic reticulum and mitochondria: the concept of chimeric signals. *FEBS J* 2011; 278: 4218-29.
148. Lu Y, Cederbaum AI. CYP2E1 and oxidative liver injury by alcohol. *Free Radic Biol Med* 2008; 44: 723-38.

149. Ivanova T, Gómez-Escoda B, Hidalgo E, Ayte J. G1/S transcription and the DNA-synthesis checkpoint: common regulatory mechanisms. *Cell Cycle* 2011; 10: 912-915.
150. Valmigli M, Valmigli L, Trere D, Gaiani S, Pedulli GF, Gramantieri L, Bolondi L. Oxidative stress EPR measurements in human liver by radical-probe technique. Correlation with etiology, histology and cell proliferation. *Free Radic Res* 2002; 36(9): 939-48.
151. Vendemiale G, Grattagliano I, Portincasa P, Serviddio G, Palasciamo G, Altomare E. Oxidative stress in symptom-free HCV carriers: relation with ALT flare-up. *Eur J Clin Invest* 2001; 31(1): 54-63.
152. Souza dos Santos RM, de Bem AF, Colpo E, Bertoncetto I, Nogueira CW, Rocha JB. Plasmatic vitamin C in nontreated hepatitis C patients is negatively associated with aspartate aminotransferase. *Liver Int* 2008; 28(1): 54-60.
153. Ray S, Broor SL, Vaishnav Y, Sarkar C, Girish R, DarL, et al. Transforming growth factor beta in hepatitis C virus infection: in vivo and in vitro findings. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 393-403.
154. Wu CF, Lin YL, Huang Yt. Hepatitis C virus core protein stimulates fibrogenesis in hepatic stellate cells involving the obese receptor. *J Cell Biochem* 2012; 114(3): 541-50.
155. Mormone E, Lu Y, Ge X, Fiel MI, Nieto N. Fibromodulin, an oxidative stress-sensitive proteoglycan, regulates the fibrogenic response to liver injury in mice. *Gastroenterology* 2012; 142: 612-21.
156. Lu G, Shimizu I, Cui X, Itonaga M, Tamaki K, Fukuno H, et al. Interferon-alpha enhances biological defense activities against oxidative stress in cultured rat hepatocytes and hepatic stellate cells. *J Med Invest* 2002; 49: 172-81.
157. Weinreb O, Amit T, Mandel S, Kupershmidt L, Youdim MB. Neuroprotective multifunctional iron chelators: from redox-sensitive process to novel therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal* 2010;13:919-49.
158. Gao B. Cytokines, STATs and liver disease. *Cell Mol Immunol* 2005;2(2):92-100.
159. Chrobot AM, Szaflarska-Szczepanik A, Drewa G: Antioxidant defense in children with chronic viral hepatitis B and C. *Med Sci Monit* 2000; 6: 713-8.

160. Hassan L. Time course of antioxidant enzyme activities in liver transplant recipients. *Transplant Proceed* 2005; 37(9): 3932–5.
161. Ciragil P, Kurutas EB, Kokoglu OF, Aral M. Oxidative stress in patients with chronic hepatitis B and C. *Balkan Med J* 2011; 28: 300-3.
162. Irshad M, Chaudhari RS, Joshi YK. Superoxide dismutase and antioxidant levels in various forms of liver diseases. *Hepato Res* 2002; 23: 178-84.
163. Larrea E, Garcia N, Qian C, Civeira MP, Prieto J. Tumor necrosis factor alpha gene expression and the response to interferon in chronic hepatitis C. *Hepatology* 1996; 23(2): 210-7.
164. Ismail NA, Okasha SH, Dhawan A, Abdel-Rahman AO, Shaker OG, Sadik NA. Antioxidant enzyme activities in hepatic tissue from children with chronic cholestatic liver disease. *Saudi J Gastroenterol* 2010; 16(2): 90-4.
165. Ko WS, Guo CH, Yeh MS, Lin LY, Hsu GS, Chen PC, et al. Blood micronutrient, oxidative stress and viral load in patients with chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2005; 11(30): 4697-702.
166. Fung J, Lai CL, Fong DY, Yuen JC, Wong DK, Yuen MF. Correlation of liver biochemistry with liver stiffness in chronic hepatitis B and development of a predictive model for liver fibrosis. *Liver Int* 2008; 28(10): 1408-16
167. Kinoshita A, Onoda H, Imai N, Iwaku A, Oishi M, Tanaka K, et al. The Glasgow Prognostic Score, an inflammation based prognostic score, predicts survival in patients with hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer* 2013; 13: 52.
168. Rosen HR, Gretch DR. Hepatitis C virus: current understanding and prospects for future therapies. *Mol Med Today* 1999; 5(9): 393-9
169. Pohanka M. Roll of oxidative stress in infectious diseases. A review. *Folia Microbiol* 2013; 58(6): 503-13
170. Lee BJ, Tseng YF, Yen CH, Lin PT. Effects of coenzyme Q10 supplementation (300 mg/day) on antioxidation and anti-inflammation in coronary artery disease patients during statins therapy: a randomized, placebo controlled trial. *Nutrition Journal* 2013; 12: 142.

171. Angelico F, Francisco S, Del Ben M, Feole K, Carbone M, Pignatelli P, Violi F, Angelico M. Clinical trial: low plasma cholesterol and oxidative stress predict rapid virological response to standard therapy with peginterferon and ribavirin in HCV patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 30(5): 444-51.
172. Onoda H, Takahashi H, Osada M, Saito A, Zeniya M, Toda G. The relationship between the intracellular redox status of immune cells and progression of hepatitis C virus related chronic liver disease. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi* 2004; 27: 315-21.
173. Ahmed MM, Abdel-Salam OME, Mohammed NA, Habib DF, Gomaa HE. Oxidative status and the response to pegylated-interferon alpha 2a plus ribavirin in chronic genotype 4 HCV hepatitis. *ESCLI Journal* 2013; 12: 605-15.
174. Faisal A, Zytoon AA, Allah ANG, Dawood A. Predictors of early virological response of viral hepatitis C to combination therapy with pegylated interferon plus ribavirin. *Am J Clin Med Res* 2013; 1(4): 54-60
175. Dogan UB, Akin MS, Yalaki S. Alanine aminotransferase normalization at week 8 predicts viral response during hepatitis C treatment. *World J Gastroenterol* 2013; 19(46): 8678-86.
176. Kim TY. The effect of alanine aminotransferase dynamics on predicting sustained virological response in chronic hepatitis C virus infection. *Kor J Hepatol* 2012; 18: 29-31.
177. Antonucci G, Angeletti C, Vairo F, Longo MA, Girardi E. Age and prediction of Sustained Virological Response to Hepatitis C virus (HCV) infection treatment based on 28-day decrease in HCV RNA levels. *J Infect Dis* 2009; 200(9): 1484-5.
178. Harzallah O, Kerkeni A, Baati T, Mahjoub S. Oxidative stress: correlation with Behcet's disease duration, activity and severity. *Eur J Intern Med* 2008; 19(7): 541-7.
179. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, Balan V, Diago M, Marcellin P, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004; 140: 346-55.
180. Berg T, Carosi G. Optimizing outcomes in patients with hepatitis C genotype 2 or 3. *Antivir Ther* 2008; 13(1): 17-22.

181. Ghanz MG, Nelson DR, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association for the study of liver diseases. *Hepatology* 2011; 54(4): 1433-44.
182. De Careaga BO. Predictive factors for response to treatment of chronic hepatitis C. *Ann hepatol* 2006; 5(Suppl 1): S24-S28.
183. Iwata R, Stieger B, Mertens JC, Muller T, Baur K, Frei P, et al. The role of bile acid retention and a common polymorphism in the ABCB11 gene as a host factors affecting antiviral treatment response in chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2011; 18(11): 768-78.
184. Fierbinteanu-Braticevici C, Mohora N, Cretoiu D, Cretoiu S, Petrisor A, Usvat R. Role of oxidative stress in the pathogenesis of chronic hepatitis C. *Rom J Morphol Embryol* 2009; 50(3): 407-12.
185. Ebeid MES, El-Bakry KEK. Cellular immune response to infection by different genotypes of hepatitis C virus. *Indian J Clin Biochem* 2009; 24(3): 234-40
186. Ansari MHK, Omrani MD, Kheradmand F. Oxidative stress response in patients infected by diverse hepatitis C virus genotypes. *Hepat Mon* 2015; 15(2): e22069.
187. Kashif N, Saeed S, Ahmad TM. Relationship between fibrosis score and response to interferon alfa&ribavirin combination therapy in chronic HCV infection. *Pak Armed Forces Med J* 2009; 59(1): 43-7.
188. Yamane D, McGivern DR, Masaki T, Lemon SM. Liver injury and disease pathogenesis in chronic hepatitis C. *Curr Top Microbiol Immunol* 2013; 369: 263-88.
189. Nascimento MM, Bruchfeld A, Suliman ME, Hayashi SY, Pecoits-Filho R, Manfro C, et al. Effects of hepatitis C serology on C-reactive protein in a cohort of Brazilian hemodialysis patients. *Braz J Med Biol Res* 2005; 38(5): 783-8.
190. Verrijken A, Francque S, Mertens I, Talloen M, Peiffer F, Van Gaal L. Visceral adipose tissue and inflammation correlate with elevated liver tests in a cohort of overweight and obese patients. *Int J Obes* 2010; 34: 899-907.
191. Asselah T, Rubbia-Brandt L, Marcellin P, Negro F. Steatosis in chronic hepatitis C: why does it really matter? *Gut* 2006; 55(1): 123-30.

192. Lonardo A, Adinolfi LE, Loria P, Carulli N, Ruggiero G, Day CP. Steatosis and hepatitis C virus mechanisms and significance for hepatic and extrahepatic disease. *Gastroenterology* 2004; 126: 586-97.
193. Melhem A, Stern M, Shibolet O, Israeli E, Ackerman Z, Pappo O, et al. Treatment of chronic hepatitis C virus infection via antioxidants: results of a phase I clinical trial. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 737-42.
194. Kumar CH, Ramesh A, Kumar JNS, Ishak BM. A review on hepatoprotective activity of medical plants. *IJPSR* 2011; 2(3): 501-15.
195. Lee SS, Ayman AA. Predicting antiviral treatment response in chronic hepatitis c: how accurate and how soon? *J Antimicrob Chemother* 2003; 51(3): 487-91.
196. Navaneethan U, Kemmer N, Neff GW. Predicting the probable outcome of treatment in HCV patients. *Therap Adv Gastroenterol* 2009; 2(5): 287-302.
197. Faisal A, Zytoon AA, Allah ANG, Daewood A. Predictors of early virological response of viral hepatitis C to combination therapy with pegylated interferon plus ribavirin. *Am J Clin Med Res* 2013; 1(4): 54-60.

Списак скраћеница

A

AP – Activator Protein

AF – Алкална фосфатаза

ALT – Аланин аминотрансфераза

ARE – Antioxidant Responsive Element

ARF – Alternate Reading Frame Protein

AST – Аспартат аминотрансфераза

ATP – Аденозин три фосфат

AUC – Area Under the Curve, Површина испод криве

C

CAT – Каталаза

CD – Cluster of Differentiation

CI – Confidence Interval, Интервал поверења

CIA – Chemiluminescence Immunoassay

CLDN1 – Claudin 1 protein

COX2 – Циклооксигеназа 2

CTGF – Connective Tissues Growth Factor

CTL – цитотоксични лимфоцит

CYP2E1 – Цитохром P450 2E1

D

DNA – Deiribonucleic Acid

ДНК – Дерибонуклеинска киселина

dsRNA – двоструко завијена РНК

DUOX1 – Dual Oxidase 1, Дуална оксидаза

E

E1 – envelope 1 glycoprotein

E2 – envelope 2 glycoprotein

EIA – Enzyme-Linked Immunoassay

ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

EVR – Early Virologic Response, Рани вирусолошки одговор

eEVR – Extended Early Virologic Response, Продужени рани вирусолошки одговор

F

F – Степен фиброзе

FDA – Food and Drug Agency

G

GGT – Гама-глутамил трансфераза

GPx – Глутатион пероксидаза

GSH – Глутатион

GSSG – Оксидирани глутатион

Н

ХАВ – Хепатитис А вирус

ХБВ – Хепатитис Б вирус

ХЦЦ – Хепатоцелуларни карцином

ХЦВ – Хепатитис Ц вирус

ХХЦ – Хронични хепатитис Ц

НАИ – Histology Activity Index, Степен некроинфламаторне активности

HLA – Human Leukocyte Antigen

НО1 – Hem oxygenase

hsCRP – High Sensitivity C-reactive Protein

Huh – Human hepatoma

HVR – Hipervariable Region

И

IFN – Интерферон

IFN γ – Интерферон γ

IL – Интерлеукин

INR – International Normalized Ratio of prothrombin time

иРНК – информация рибонуклеинска киселина

IRES – Internal Ribosome Entry Site

ISDR – Interferon Sensitive Determining Region

ISFG – Интерфероном стимулирани генски фактор

ISG – Интерфероном стимулирани гени

8-iso-PGF α – 8-iso-простагландин α

Ивд – Интравенска употреба дрога

J

JAK – Janus kinase

JAK/STAT – Janus kinase/Signal Transducers and Transcription Activators

JFH – Japanese Fulminant Hepatitis

L

LDH – Лактат дехидрогеназа

M

MAPK – Mitogen Activated Protein Kinase

Maf – Musculoaponeurotic fibrosarcoma

MELD – Model for End-Stage Liver Disease

MHC – Major Histocompatibility Complex

MMP – Матрикс металопротеиназа

mRNA – Messenger Ribonucleic Acid, информациона рибонуклеинска киселина

MSM- Man Sex Man, хомосексуалац

N

NAD(P)H – Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

NF-AT – Nuclear Factor of Activated T cells

NF-κB – Nuclear Factor κB

NK – Natural Killer ћелије

NOX2 - Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase

Nrf2 – NF-E2 related factor

NS region – Регион који кодира синтезу неструктурних ХЦВ протеина

NS2 – Неструктурни протеин 2

NS3 – Неструктурни протеин 3

NS4A – Неструктурни протеин 4А

NS4B – Неструктурни протеин 4В

NTR – Нетранслатирајући регион

O

2'5' OAS – 2'5' олигоаденилат синтетаза

OCLN – Occluding protein

OR – Odds/Ratio, унакрсни однос

ORF – Open Reading Frame

P

PCR – Polymerase Chain Reaction

PEG – Полиетилен гликол

PEG IFN α – Пегировани интерферон α

pEVR – Partially Early Virologic Response, Парцијални рани вирусолошки одговор

PGE2 – Простагландин E2

Protein F – Frameshit protein

PRx – Пероксиредоксин

PUFA – Polyunsaturated fatty acids

R

R – Пирсонов коефицијент корелације

R² – Коефицијент детерминације

RBV – Рибавирин

RdRp – RNA dependent RNA polymerase

RНаза L – ендорибонуклеаза L

РНК – Рибонуклеинска киселина

ROC – Receiver Operating Characteristic Curve, Крива оперативних карактеристика

RVK–Реактивне врсте кисеоника

RVN – Реактивне врсте азота

RVR – Rapid Virologic Response, Рапидни вирусолошки одговор

S

Sp – Сигнална пептидаза

Spp – Сигнална полипептидаза

S-region – Регион који кодира синтезу структурних ХЦВ протеина

SOD – Супероксид димутаза

ssRNA – једнострукно завијена РНК

SR BI – Scavenger Receptor type I

SVR – Sustained Virologic Response, Стабилни вирусолошки одговор

T

Tfr – Трансферински рецептори

TGF β – Transforming Growth Factor β , Трансформишући фактор раста бета

Th – T helper

TLR – Toll-like Receptor

TMA – Transcription Mediated Amplification

TNF α – Tumor Necrosis Factor

Tr – Тромбоцити

TrxR – Тиоредоксин редуктаза

Tyk – Тирозин киназа

U

3' UTR – 3' некодирајући регион

W

WHO – World Health Organization

Биографија аутора

Др Лидија Поповић Драгоњић је рођена 09.04.1981. у Нишу. Са сталним је местом боравка у Нишу, ул. Патрисија Лумумбе 4/21. Удата је и мајка двоје деце.

Основну школу "Свети Сава" у Нишу завршила је са успехом 5.0 и као носилац "Вукове дипломе". Гимназију "9.мај" у Нишу завршила је такође са успехом 5.0 и понела је титулу "Ћак генерације".

Године 2000/2001. уписала је Медицински факултет Универзитета у Нишу. Добитник је бројних захвалница, похвалница и стипендија Медицинског факултета у Нишу, Министарства просвете, Републичке фондације за развоје научног и уметничког подмлатка и Фондације за младе таленте. У периоду од 2002/2003. до 2005/2006. била је демонстратор на предмету Хистологија са ембриологијом. Шеснаестог јуна 2006. године дипломирала је на Медицинском факултету у Нишу, са просечном оценом 10. Добитник је Повеље Универзитета у Нишу - Најбољем дипломираном студенту Медицинског факултета у Нишу 2005/2006; Награде Српског лекарског друштва - Најбољем дипломираном студенту на Медицинском факултету у Нишу, школске 2005/2006.

Године 2006/2007. уписала Академске докторске студије, смер Молекуларна медицина, на Медицинском факултету у Нишу, као пета на ранг листи на пријемном испиту. После одслушаних свих предмета и положених свих испита на АДС - молекуларна медицина, прешла је на АДС – клиничка медицина. Била је учесник пројекта Министарства науке и заштите животне средине у научној дисциплини Биохемија, назив пројекта: Дијагностички и прогностички значај биомаркера инфламације, оксидационог стреса и смрти ћелије у исхемијској болести срца.

Од 27.06.2007. запослена на Клиници за инфективне болести – КЦ Ниш, од 04.11.2008. у сталном радном односу. Дана 09.09.2015. положила специјалистички испит из инфектологије са оценом "одличан". Распоређена је на Одсеку за ХИВ&АИДС при Одељењу интензивне неге.

Од 01.02.2011. је у звању сарадник у настави за ужу научну област Инфектологија. Аутор је и коаутор 39 научних и стручних радова.

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом

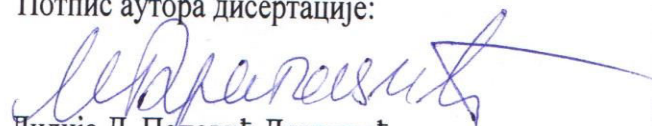
Активност антиоксидативних ензима еритроцита код пацијената оболелих од хроничног хепатитиса Ц, лечених пегилованим интерфероном алфа-2а и рибавирином

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да ову дисертацију, ни у целини, нити у деловима, нисам пријављивала на другим факултетима, нити универзитетима;
- да нисам повредила ауторска права, нити злоупотребила интелектуалну својину других лица.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са ауторством и добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Нишу, 11.04.2016.

Потпис аутора дисертације:



Лидија Д. Поповић Драгоњић
(Име, средње слово и презиме)

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу унесе моју докторску дисертацију, под насловом:

Активност антиоксидативних ензима еритроцита код пацијената оболелих од хроничног хепатитиса Ц, лечених пегилваним интерфероном алфа-2а и рибавирином

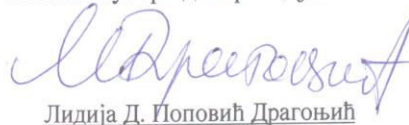
Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском облику, погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију, унету у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, могу користити сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons), за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прераде (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

У Нишу, _____ 11.04.2016. _____

Потпис аутора дисертације:



Лидија Д. Поповић Драговић

(Име, средње слово и презиме)

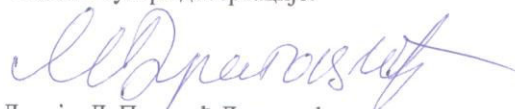
**ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ЕЛЕКТРОНСКОГ И ШТАМПАНОГ ОБЛИКА
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Наслов дисертације: Активност антиоксидативних ензима еритроцита код пацијената оболелих од хроничног хепатитиса Ц, лечених пегилованим интерфероном алфа-2а и рибавирином.

Изјављујем да је електронски облик моје докторске дисертације, коју сам предала за уношење у **Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу**, истоветан штампаном облику.

У Нишу, 11.4.2016.

Потпис аутора дисертације:



Лидија. Д. Поповић Драгоњић
(Име, средње слово и презиме)