

Utjecaj značajki domaćina na progresiju jetrene fibroze kod kroničnog hepatitisa C

**Ivica GRGUREVIĆ¹), dr. med.,
specijalist internist,
Adriana VINCE²), doc. dr. sc., dr. med.,
specijalist infektolog,
Ivan KURELAC²), dr. med.,
specijalist infektolog**

- ¹)Zavod za gastroenterologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinička bolnica »Dubrava«, Zagreb
²)Odjel za virusni hepatitis, Klinika za infektivne bolesti »Dr. Fran Mihaljević«, Zagreb

Ključne riječi

*kronični hepatitis C
ciroza jetre
fibrogeneza
genetička predispozicija*

Key words

*chronic hepatitis C
liver cirrhosis
fibrogenesis
genetic factors*

Primljeno: 2006–05–27

Received: 2006–05–27

Prihvaćeno: 2006–06–27

Accepted: 2006–06–27

Uvod

Kronični hepatitis C (KHC) predstavlja značajan javnozdravstveni problem u svjetskim razmjerima. Procjenjuje se naime da od ove bolesti u svijetu boluje oko 200 milijuna osoba, pri čemu u određenim geografskim područjima ima gotovo značajke epidemije [1, 2]. U većini europskih zemalja prevalencija infekcije iznosi između 1–2 %. Zlatni standard u liječenju kroničnog hepatitisa C predstavlja kombinacija pegiliranog interferona i ribavirina, koja dovodi do trajne eradikacije virusa u 40 do 80 % bolesnika ovisno o genotipu, ali je povezana i s brojnim nuzpojavama [2]. Zbog kasnog prepoznavanja, ali i nedostatne obuhvaćenosti programom liječenja kod velikog broja oboljelih mogu se očekivati kasne komplikacije u obliku ciroze i hepatocelularnog karcinoma (HCC).

Pregledni članak

Smatra se da oko 200 milijuna ljudi u svijetu boluje od kroničnog hepatitisa C što predstavlja velik javnozdravstveni problem. Kronični hepatitis C je bolest vrlo heterogenog kliničkog tijeka pri čemu je osnovni čimbenik dugoročne prognoze brzina napredovanja jetrene fibroze koja konačno rezultira cirozom i njenim komplikacijama uključivo i nastankom hepatocelularnog karcinoma. Na prirodni tijek bolesti značajno utječu karakteristike domaćina. S lošijom prognozom povezuju se muški spol, starija dob kod stjecanja infekcije, bijela rasa, određeni aleli gena sustava HLA, interleukina i kemokina, koagulacijskih faktora, faktora rasta, tkivnih metaloproteinaza, opterećenje željezom te steatoza jetre u sklopu metaboličkog sindroma. Prepoznavanje i analiza ovih čimbenika iznimno je značajna za brzu identifikaciju bolesnika s potencijalnom brzom progresijom bolesti i optimizaciju njihovog liječenja.

Impact of host characteristics on liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C

Review article

Hepatitis C virus infection is an important global public health problem with 200 million people suffering from chronic disease worldwide. The clinical course of chronic hepatitis C is heterogeneous. The most important predictor of long-term diseases outcome is the dynamics of liver fibrosis progression which leads to cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Natural course of chronic infection is significantly determined by the characteristics of the host. Male sex, older age at the disease onset, Caucasian race, host's genetic polymorphism for HLA, interleukins, chemokines, coagulation factors, growth factors, tissue metalloproteinases as well as iron overload and liver steatosis represent host factors associated with unfavorable disease outcome. Recognition and analysis of these factors is important for the early identification of rapid progressors and treatment optimization of these patients.

Incidencija HCC-a bilježi sve brži porast, te se očekuje da će vršne vrijednosti dosegnuti oko 2010. godine [3, 4]. Naime, tada će proći 30-ak godina od identifikacije virusa, te prikupljanja spoznaja o epidemiologiji i patogenezi infekcije, što predstavlja vremenski period potreban za razvoj HCC-a kod inficiranih osoba. Ovo razdoblje korespondira sa sredinom 70-ih godina dvadesetog stoljeća kada je zabilježen porast zloporabe iv. droga i nastupa većih seksualnih sloboda čime su stvoreni uvjeti za nekontrolirano širenje infekcije.

Ove spoznaje nameću potrebu za daljnjim istraživanjima svih aspekata ove bolesti u cilju što preciznijeg definiranja njenih epidemioloških značajki, prirodnog tijeka, mogućnosti i načina liječenja, te prevencije.

Hepatitis C je bolest s vrlo heterogenim kliničkim tijekom i ishodom [5]. Prema dosadašnjim spoznajama oko 20–30 % neliječenih bolesnika progredirat će do stadija ciroze u roku od 30 godina, kod druge trećine ciroza će se razviti unutar 20 godina, dok kod trećine oboljelih ciroza neće nastupiti niti nakon 50 godina od infekcije [6, 7]. Iz toga proizlazi potreba za prepoznavanjem onih bolesnika kod kojih je liječenje najpotrebnije zbog sprječavanja napredovanja fibroze, kao i onih koji imaju najveću vjerojatnost trajnog izlječenja. U tom smislu provode se istraživanja usmjerena na definiranje prirodnog tijeka bolesti, čimbenika vezanih za njenu progresiju, kao i pronalaženje novih učinkovitijih terapijskih modaliteta. U sklopu istraživanja patogeneze ove bolesti, sve se više pažnje posvećuje proučavanju domaćinskih čimbenika kao važnih prediktora kliničkog ishoda bolesti.

Čimbenici rizika za progresiju kroničnog hepatitisa C

Stadij uznapredovalosti odnosno progresije kroničnog virusnog hepatitisa procjenjuje se primarno prema zastupljenost fibroze u jetrenom parenhimu. Najprecizniju informaciju o stupnju fibroze dobivamo biopsijom jetre i patohistološkom analizom adekvatnog uzorka u kojemu se procjenjuje uznapredovalost fibroze (stadij bolesti) i stupanj nekroinflatorne aktivnosti. Dva najčešće primjenjivana sustava bodovanja navedenih promjena jesu Ishakova modifikacija Knodellovog indeksa histološke aktivnosti (HAI) i METAVIR klasifikacija [8, 9]. Veća zastupljenost i brže umnažanje veziva definiraju nepovoljniji tijek, tj. ukazuju na progresivnu bolest. Nekroinflatorna aktivnost ne korelira dobro s fibrozom, pa time niti sa progresijom bolesti u cirozu.

S patofiziološkog stanovišta čimbenici koji mogu utjecati na prirodni tijek bolesti mogu se podijeliti na one vezane uz virus, domaćina i okoliš [6, 7]. Iako su u početku postojala izvješća o mogućem nepovoljnom utjecaju genotipa 1b virusa na razvoj fibroze [10], kasnije studije su to opovrgnule tako da se danas zna da genotip virusa niti viremija nisu neovisni prediktivni čimbenici za tijek bolesti, ali značajno utječu na ishod terapije. S druge strane, jasno je dokazano da okolišni čimbenici mogu znatno modulirati prirodni tijek bolesti: tako je npr. dokazano da uživanje alkohola [11], pušenje kanabisa [12] ali i običnih cigareta [13] ubrzavaju razvitak fibroze. Koinfekciju virusom hepatitisa B ili HIV-om neki autori svrstavaju u čimbenike vezane uz domaćina, a neki u okolišne čimbenike. Neovisno o didaktičnom pristupu, koinfekcija ovim virusima povezana je sa bržim napredovanjem fibroze kod bolesnika sa hepatitisom C [14, 15]. Mogući utjecaj karakteristika domaćina na tijek bolesti u zadnje vrijeme postaje temom sve većeg broja istraživanja. Ona su usmjerena na genetičke (nepromjenjive) karakteristike domaćina, kao i na one koje nastaju zbog odre-

đenih životnih navika. Ova potonja skupina se u određenoj mjeri preklapa s učinkom okoliških čimbenika, jer primjerice prekomjeren unos hrane rezultirat će porastom tjelesne težine, mogućim razvitkom metaboličkog sindroma sa steatohepatitisom, što može pogoršati tijek bolesti, kao i doprinijeti lošijem odgovoru na interferonsku terapiju. U tom slučaju debljina, steatoza jetre i inzulinska rezistencija jesu karakteristike domaćina, ali nisu (barem ne isključivo) genetički zadane, već su nastale zbog određenih životnih navika.

Utjecaj značajki domaćina na progresiju kroničnog hepatitisa C

Genetički (nepromjenjivi) čimbenici

Spol

U svim dosadašnjim istraživanjima dokazano je da fibroza znatno brže progredira kod muškaraca [17]. Više je razloga ovom fenomenu; različita konstelacija hormona, različite životne navike poput prekomjerne konzumacije alkohola, droga, pušenje itd. Poznato je da estrogeni štite od ateroskleroze i trombogeneze, a uvažavajući u daljnjem tekstu navedene spoznaje o aktivaciji koagulacijskog sustava tijekom upale [33], kao i djelovanju njegovih čimbenika na fibrogenezu, nazire se djelomično objašnjenje za uočene spolne razlike u brzini napredovanja jetrene fibroze.

Rasa

U nekoliko studija dokazano je kako se agresivniji tijek bolesti može očekivati kod bjelačkog stanovništva u odnosu na Afroamerikance što je svojevrsni paradoks s obzirom na veću raširenost infekcije u Afroamerikanaca, veću incidenciju HCC-a i slabiji odgovor na terapiju [18–21], no svakako su potrebne daljnje studije za točno definiranje rasnih karakteristika.

Dob stjecanja infekcije

Ovo je vrlo važan čimbenik koji određuje progresiju bolesti. Najmanji rizik progresije uočen je kod osoba oboljelih u dobi mlađoj od 20 godina, srednji u dobi od 20–40 g., a najveći iznad 40 odnosno 50 g [6]. Vjerojatni uzrok leži u prirodnom slabljenju staničnog imuniteta tijekom godina.

Geni HLA sustava

HLA sustav ključan je u prezentaciji antigena i usmjeravanju imunološke reakcije organizma na brojne agense. Radi se o iznimno polimorfnom sustavu na čemu se temelji interindividualna varijabilnost osoba, što omogućava adekvatno razlikovanje stranog, ali predstavlja i glavnu zapreku alogenoj transplantaciji organa. Brojna istraživanja pokušala su dovesti u svezu pojedine antigenske varijante ovog sustava, tj. njegove genske (alelne) polimorfizme s nastankom i razvitkom pojedinih

bolesti kao i različitim odgovorom na terapiju. Ove studije temeljile su se na pretpostavci da za različit tijek i ishod nekih upalnih bolesti treba tražiti uzrok u različitoj imunološkoj reakciji organizma na isto etiopatogenetsko zbijanje, što bi pak trebalo biti genetski uvjetovano. U tom kontekstu nađena je povezanost alela HLA sustava B54, DR3, DRB1*0405, DQB1*0401, DQB1*0502 s bržim razvitkom fibroze kod bolesnika sa kroničnim hepatitisom C [22–24].

Geni interleukina i drugih medijatora koji sudjeluju u upalnom odgovoru na infekciju

Provedena su brojna istraživanja usmjerena na polimorfizam drugih važnih čimbenika upalnog odgovora organizma poput interleukina i kemokina. Interleukini su proteini koji predstavljaju efektore i regulatore imunološke reakcije. Trenutno važeća paradigma svrstava interleukine u tri kategorije ovisno o fenotipu imunološke reakcije koju oni izazivaju: Th1 interleukini (primjer IL-2, -8, -12, -18, IFN- γ , TNF- β) najčešće posreduju stanični tip imunološke reakcije i u većoj proporciji rezultiraju izlječenjem (u slučaju kroničnog hepatitisa C terapija ribavirinom upravo potencira ovakvu reakciju i smatra se da je to možda glavni učinak ribavirina u liječenju); Th2 interleukini (IL-3, -4, -5, -6, -9, -13) posreduju uglavnom humoralne reakcije, nalaze se kod alergijskih bolesti, a u kontekstu hepatitisa C ne vode adekvatnoj eradikaciji uzročnog agensa; Th3/ Tr1/ CD4+CD25+ interleukini (TGF- β , IL-10) djeluju imunosupresivno [25]. Geni za interleukine su također polimorfni s brojnim varijacijama u nukleotidnoj sekvenci koje mogu biti lokalizirane u strukturnim regijama gena kao i u promotorskim regijama. Pri tome je dovoljna zamjena samo jedne nukleotidne baze (engl. *Single nucleotide polymorphism*, SNP) da bi došlo do promijenjene ekspresije gena, tj. veće ili manje sinteze dotičnog interleukina, ili, ukoliko je promjena lokalizirana u jednoj od strukturnih regija, do promjena u njegovoj terciarnoj strukturi, čime se ne mijenja njegova sinteza, ali se može ipromijeniti njegova aktivnost. Kod kroničnog hepatitisa C poželjan je dakle Th1 citokinski profil, pa bi bilo za očekivati da će zastupljenost onih alela koji dovode do njihove pojačane ekspresije odnosno sinteze biti povezana sa blažom bolesti i uspješnijom spontanom ili terapijom induciranom eradikacijom virusa. Rezultati nekoliko do sada objavljenih studija su donekle proturječni [26]. Tako je primjerice uočena povezanost genotipa -1082A za IL-10 sa bržim napredovanjem fibroze, što je uočeno i kod bolesnika sa genotipom IL-1RA (intron2VNTR)*2 [27, 28]. S druge strane, postoje studije u kojima nije nađena povezanost stadija jetrene bolesti sa polimorfizmima gena za IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , TGF- β i IFN- γ [29]. Također nije uočena povezanost pojedinih polimorfizama kemokina (CCR5 δ 32, CCR2-64I, CCR5promoter59029A, RANTES -403A, RANTES -28G, SDF1-3A) sa stadijem fibroze, dok je uočena povezanost genotipa RANTES-403G/A sa stup-

njem upalne aktivnosti [30]. U pogledu utjecaja na ishod terapije uočeno je da bolesnici sa genotipom I188C za IL-12B [31], -1082 GG za IL-10 [27] i RANTES 59029 G/A [30] imaju bolji trajni odgovor na terapiju.

Faktor 5 komplementa (C5)

Sustav komplementa uključen je u kaskadu upalnog odgovora na različite nokse uključivo i na HCV. Receptor za komponentnu C5 komplementa (C5R1) ekspimiran je u jetri na endotelnim stanicama sinusoida, Kupfferovim stanicama i aktiviranim miofibroblastima. Sintaza C5 komponente komplementa kodirana je genom za koji je nedavno identificirano 5 najčešćih haplotipova određenih s četiri SNP-a. Dokazano je da su neki od njih (C5-1 TT i C5-5 CT) povezani s višim stupnjem jetrene fibroze kod bolesnika sa kroničnim hepatitisom C, a na animalnom modelu se primjenom malih peptidnih molekula inhibitora receptora C5R1 uspjelo usporiti napredovanje fibroze [32]. Učinak komplementa na fibrogenezu može se barem dijelom i posredno objasniti nalazom da se kod primjene inhibitora C5R1 smanjuje ekspresija tkivnih inhibitora proteinaza ekstracelularnog matriksa (TIMP-1) čime se povećava aktivnost samih metaloproteinaza i time razgradnja kolagena. Drugim riječima komplement aktivira inhibitore metaloproteinaza i time se smanjuje razgradnja odnosno povećava akumulacija veziva u tkivu.

Mutacija faktora V Leiden koagulacijskog sustava

Mutacija FV Leiden (Arg560Gln) bila je signifikantno povezana sa višim stupnjem fibroze u studiji kojom su obuhvaćene 352 osobe bijele rase inficirane HCV-om [33]. Ova mutacija dovodi do rezistencije na aktivirani protein C čime se smanjuje inaktivacija faktora V, što rezultira smanjenjem inhibicije koagulacijske kaskade i konačno povećanom produkcijom trombina. Za trombin je od ranije poznato da djeluje kao mitogen stelatnih stanica dovodeći na taj način do povećane fibrogeneze.

Geni čimbenika rasta i tkivnih pregradbenih proteina

U ovu kategoriju može se ubrojiti veliki broj čimbenika vrlo različitih bioloških aktivnosti. Ovdje ćemo spomenuti samo one koji su ispitivani u kontekstu hepatitisa C.

TGF- β i angiotenzin II

TGF- β je važan čimbenik rasta čije se djelovanje u brojnim organima očituje poticanjem fibrogeneze. Jedan od glavnih stimulatora lučenja TGF- β je angiotenzin II čija je aktivnost povećana u brojnim patološkim stanjima u organizmu, a primjenom inhibitora renin-angiotenzinskog sustava (RAS) (ACE inhibitora ili ATII receptora) u bolestima bubrega i srca učinkovito se sprječava remodeliranje organa, odnosno fibrogeneza. Iako postoje proturječni podaci, prevladavaju studije čiji rezultati govore u prilog povezanosti polimorfizama gena za TGF- β i RAS sa napredovanjem jetrene fibroze [34–36]. Kod bolesnika

sa hipersintetskim genotipom producirat će se više TGF- β koji će onda dovesti do veće sinteze vezivnog tkiva u jetri. Nedvojbeno je da TGF- β i RAS predstavljaju potentne faktore u procesu fibrogeneze i remodeliranja parenhimnih organa, te bi u kontekstu kroničnih upalnih bolesti jetre bilo vrlo važno preciznije definirati njihovu ulogu što bi moglo imati terapijske implikacije u pokušaju prevencije remodeliranja jetrenog parenhima, tj. progresiji fibroze.

Geni metaloproteinaza ekstracelularnog matriksa

Matriks metaloproteinaze (MMP) su skupina enzima koji imaju odlučujuću ulogu u razgradnji proteina ekstracelularnog matriksa, te se temeljem toga u nekim studijama promatrala njihova uloga u nastanku i razvitku jetrene fibroze. Logičnim se nameće razmišljanje da će smanjena aktivnost ovih enzima rezultirati bržom akumulacijom kolagena i ostalih komponentni ECM-a. U tom kontekstu rezultati nedavno objavljene studije Okamoto i sur. ukazuju na povezanost polimorfizama u promotorskim regijama gena za 3 enzima tkivnih matriks proteinaza (MMP-1 genotip 2G, MMP-3 genotip 5A i MMP-9 genotip C) sa višim stupnjem jetrene fibroze [37].

Metabolički čimbenici domaćina

Metabolički sindrom

Metabolički sindrom predstavlja etiopatogenetski temelj dominantnog dijela bolesti kardiocirkulatornog sustava (onih koje su uzrokovane aterosklerozom) i dijela neoplazmi, a time i najznačajniji uzrok morbiditeta i mortaliteta u svjetskim razmjerima [38]. Sindrom se definira pretilošću centralnog tipa ili BMI>30 uz prisutan najmanje jedan od slijedećih čimbenika: hipertenzija, intolerancija glukoze ili DM čiju podlogu čini inzulinska rezistencija u sklopu ovog sindroma, te dislipidemija karakteririrana povišenim vrijednostima triglicerida ili sniženim vrijednostima HDL-a. Zbog svojih dramatičnih reperkusija po zdravlje neki autori ga slikovito nazivaju »smrtonosnim kvartetom«. Pažljivim proučavanjem bolesnika koji imaju neke od značajki ovog sindroma uočena je znatno veća zastupljenost masne jetre u odnosu na zdravu populaciju (72,5 vs. 20 % od čega je u trećine već prisutna značajna fibroza), pa je sve veći broj autora počinje smatrati jednom od značajki sindroma [39]. Masna infiltracija jetre prezentira se bilo u obliku steatoze bez »itisa« bilo kao nealkoholni steatohepatitis (NASH). Upravom se NASH smatra dominantnim etiološkim čimbenikom kod bolesnika koji razvijaju cirozu bez jasno dokazanog uzroka, tj. za koje se obično kaže da boluju od kriptogene ciroze [40]. Nije posve jasno kod kojeg broja bolesnika NAFLD (non-alcoholic fatty liver disease) prelazi u NASH, međutim u studijama koje su analizirale obducirane pretile bolesnike NAFLD je zabilježena u oko 70–80 %, a NASH u oko 20 % [41]. Kada se već razvije NASH studije su zabilježile

progresiju u fibrozu kod 27 % bolesnika u roku od 9 godina, a cirozu u njih 19 % [42]. Za kronični hepatitis C upravo je karakteristična pojava steatoze, pri čemu treba razlikovati dva oblika. Prvi se pojavljuje kod virusnog genotipa 3 i smatra se da je uzrokovan neposrednim djelovanjem virusa [43]. Naime, bazične studije pokazale su kako core protein i NS5A protein virusa genotipa 3 interferiraju sa intracelularnim metabolizmom masnih kiselina i triglicerida te priječe njihovo uklapanje u VLDL lipoproteine i njihovo izlučivanje iz jetre. Time uz sve ostale nekroinflamatorne i fibrozne promjene u tkivu jetre dovode i do razvitka steatoze makrovezikularnog tipa. S druge strane kod virusa genotipa 1 i 4 steatoza nije uzrokovana djelovanjem virusa, već se može promatrati kao dio kliničke slike metaboličkog sindroma. Sve do sada objavljene značajne epidemiološke studije nedvojbeno su dokazale kako je steatoza značajan rizični čimbenik koji ubrzava progresiju fibroze kod bolesnika sa hepatitisom C, a također rezultira lošijim ishodom liječenja. Pri tome još nije definirano kolika mora biti zastupljenost steatoze da bi ista značajno utjecala na tijek bolesti. Neki autori smatraju vrijednosti manje od 20 % masno infiltriranih hepatocita u bioptičkom uzorku nebitnim, dok neki tu granicu pomiču na 50 % [44, 45]. Prema tome antivirusna terapije kod bolesnika sa značajnom steatozom morat će biti popraćena i mjerama usmjerenim na redukciju steatoze [45].

Opterećenje željezom (mutacije gena za hemokromatozu)

Željezo je važan kofaktor u životnom ciklusu mikroorganizama, kao i medijator oksidativnog stresa. Povećan sadržaj željeza u organizmu može biti genetski uvjetovan (Hemokromatoza uvjetovana mutacijama HFE gena) ili nastati njegovim povećanim unosom bilo alimentarnim putem ili parenteralno (politransfuzije) kao i uslijed kronične hemolitičke bolesti čime se povećava njegovo oslobađanje iz hemoglobina, što neovisno o navedenom uzroku rezultira njegovim odlaganjem u tkivima, poglavito u jetri u obliku pigmenta hemosiderina. Povećan sadržaj željeza u jetri zbog kroničnog oksidativnog stresa aktivira stanice retikuloendotela, tj. Kupferove odnosno stelatne stanice i na taj način uzrokuje umnažanje veziva [46]. Uočeno je da bolesnici s kroničnim hepatitisom C često imaju povećan sadržaj željeza u jetri, što je kod ovih bolesnika bilo udruženo s izraženijom fibrozom i lošijim odgovorom na terapiju. U nekoliko studija postavilo se pitanje može bitnog učinka heterozigotne mutacije gena za HFE (tj. C282Y; inače, primarna hemokromatoza se razvija kod homozigota za ovu mutaciju, dakle oba alela, ili pak kod složenih heterozigota tj. C282Y/H63D [47]) na akumulaciju željeza u jetri, a time i na tijek bolesti te ishod liječenja. Iako je u jednoj studiji nađena povezanost heterozigotne mutacije ovog gena sa višim stadijem jetrene bolesti (tj. fibroze) kod bolesnika sa hepatitisom C [48], ostale studije nisu potvrdile ovaj nalaz. Također, postoje i manje studije koje su iznijele zapažanja da željezo ne ut-

ječe negativno na ishod liječenja [49], što ipak ne odgovara dominantnom nalazu većine drugih studija koje govore u prilog negativnom učinku željeza na navedene varijable. Stoga se preporuča u slučaju njegove povećane akumulacije u organizmu venepunkcijama odstraniti suvišak.

Zaključak

Kronični hepatitis C je bolest vrlo heterogenog kliničkog tijeka i konačnog ishoda. Osnovni parametar koji određuje dugoročnu prognozu je brzina napredovanja jetrene fibroze do razvoja ciroze i njenih komplikacija, a u jednog dijela bolesnika i nastankom hepatocelularnog karcinoma. Karakteristike domaćina imaju vrlo važan utjecaj na sam tijek bolesti. Prema dosadašnjim spoznajama lošija prognoza bolesti povezana je s muškim spolom, starijom dobi u trenutku stjecanja infekcije, bijelom rasom, određenim alelima gena sustava HLA, interleukina i kemokina, faktora koagulacijskog sustava, tkivnih metaloproteinaza ako i s opterećenjem željezom i masnom infiltracijom jetre.

Literatura

- [1] Reiser M, Lauer GM. Viral Hepatitis. *Infect Med* 2003; 20: 281–9.
- [2] Alberti A, Benvegna L. Management of hepatitis C. *J Hepatol* 2003; 38:S104–118.
- [3] Bosch FX, Ribes J, Diaz M, Cleries R. Primary Liver Cancer: Worldwide Incidence and Trends. *Gastroenterology* 2004; 127: S5–16.
- [4] El-Serag HB. Hepatocellular Carcinoma: Recent Trends in the United States. *HCC. Gastroenterology* 2004; 127: S27–34.
- [5] Duvnjak M, Pavić T, Tomašić V, Lerotić I, Virović L. Hepatitis C-Treatment of naive patients. *Acta Med Croatica* 2005; 59: 453–61.
- [6] Poynard T, Bedossa P, Opolon P, for the OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR and DOSVIRC groups. *Lancet* 1997; 349: 825–32.
- [7] Seeff LB. Natural History of Chronic Hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36:S35–S46.
- [8] Ishak K, Baptista A, Bianchi L et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995; 22: 696
- [9] Bedossa P, Poynard T, for the METAVIR Cooperative Study Group. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. *Hepatology* 1996; 24: 289–93.
- [10] 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: 695–99.
- [11] Hutchinson SJ, Bird SM, Goldberg DJ. Influence of alcohol on the progression of hepatitis C virus infection: a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3(11): 1150–9.
- [12] Hezode C, Roudot-Thoraval F, Nguyen S, Grenard P, Julien B, Zafrani ES, Pawlowsky JM, Dhumeaux D, Lotersztajn S, Mallat A. Daily cannabis smoking as risk factor for progression of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005; 42(1): 63–71.
- [13] Pessione F, Ramond MJ, Njapoum C, Duchatelle V, Degott C, Erlinger S, Rueff B. Cigarette smoking and hepatic lesions in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2001; 34: 121–5.
- [14] Tsai JF, Jeng JE, Ho MS, Chang WY, Lin ZY, Tsai JH. Independent and additive effect modification of hepatitis B and C virus infection on the development of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1996; 24: 271–276.
- [15] Benhamou Y, Bochet M, Di Martino V, Charlotte F, Azria F, Coutellier A, Vidaud M. Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus infected patients. *Hepatology* 1999; 30: 1054–58.
- [16] Hourigan LF, MacDonald GA, Purdie D et al. Fibrosis in chronic hepatitis C correlates significantly with body mass index and steatosis. *Hepatology* 1999; 29: 1215–19.
- [17] Bissell DM. Sex and hepatic fibrosis. *Hepatology* 1999; 29: 988–9.
- [18] Wiley TE, Brown J, Chan J. Hepatitis C virus infection in African Americans: its natural history and histological progression. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 700–6.
- [19] Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, McQuillan GM, Gao F, Moyer LA, Kazlow RA. The prevalence of hepatitis C virus infection in United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med* 1999; 341: 556–562.
- [20] El-Serag HB, Mason AC. Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States. *N Engl J Med* 1999; 340: 745–50.
- [21] Howell C, Jeffers L, Hoofnagle JH. Hepatitis C in African Americans: summary of a workshop. *Gastroenterology* 2000; 32: 828–834.
- [22] Alric L, Fort M, Izopet J et al. Genes of Major histocompatibility complex class II influence the outcome of hepatitis C virus. *Gastroenterology* 1997; 113: 1675–81.
- [23] Kuzushita N, Hayashi N, Moribe T, Katayama K, Kanto T, Nakatani S, Keneshige T, Tatsumi T, Ito A, Mochizuki K, Sasaki Y, Kasahara A, Hori M. Influence of HLA Haplotypes on the Clinical Courses of Individuals Infected With Hepatitis C Virus. *Hepatology* 1998; 27(1): 240–4.
- [24] De Andrade DR Jr, De Andrade DR. The influence of the human genome on chronic viral hepatitis outcome. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 2004; 46(3):
- [25] Shi HN, Walker A. T helper cell subclasses and clinical disease states. *Curr Opin Gastroenterol* 2002; 18: 711–16.
- [26] Bataller R, North KE, Brenner D. Genetic Polymorphisms and the Progression of Liver Fibrosis: A Critical Appraisal. *Hepatology* 2003; 37: 493–503.
- [27] Knapp S, Hennig BJ, Frodsham AJ, Zhang L, Hellier S, Wright M, Goldin R, Hill AV, Thomas HC, Thrusz MR. Interleukin-10 promoter polymorphisms and the outcome of hepatitis C virus infection. *Immunogenetics* 2003; 55(6): 362–9.
- [28] Bahr MJ, El Menuawy M, Boeker KHW, Musholt PB, Manns MP, Lichtinghagen R. Cytokine gene polymorphisms and the susceptibility to liver cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Liver International* 2003; 23: 420–25.
- [29] Barrett S, Collins M, Kenny C, Ryan E, Keane CO, Crowe J. Polymorphisms in tumor necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta, interleukin-10, interleukin-6, interferon-gamma, and outcome of hepatitis C virus infection. *J Med Virol* 2003; 71(2): 212–8.
- [30] Promrat K, McDermott DH, Gonzales CM, Kleiner DE, Koziol DE, Lessie M, Merrell M, Soza A, Heller T, Ghany M, Park Y, Alter HJ, Hoofnagle JH, Murphy PM, Liang TJ. Associations of Chemokine System Polymorphisms and Treatment Responses of Chronic Hepatitis C. *Gastroenterology* 2003; 124: 352–60.
- [31] Mueller T, Mueller T, Mas-Marques A, Sarrazin C, Wiese M, Halangk J, Witt H, Ahlenstiel G, Spengler U, Goebel U, Wiedenmann B, Schreiber E, Berg T. Influence of interleukin 12B

- (IL12B) polymorphisms on spontaneous and treatment-induced recovery from hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2004; 41(4): 652–8.
- [32] Hillebrandt S, Wasmuth HE, Weiskirchen R, Hellebrand C, Keppeler H, Werth A, Schirin-Sokhan R, Wilkens G, Geier A, Lorenzen J, Kohl J, Gressner AM, Matern S, Lammert F. Complement factor 5 is a quantitative trait gene that modifies liver fibrogenesis in mice and humans. *Nature Genetics* 2005;37(8): 835–43.
- [33] Wright M, Goldin R, Hellier S, Knapp S, Frodsham A, Hennig B, Hill A, Apple R, Cheng S, Thomas H, Thursz M. Factor V Leiden polymorphism and the rate of fibrosis development in chronic hepatitis C virus infection. *Gut* 2003; 52: 1206–210.
- [34] Gressner AM, Weiskirchen R, Breitkopf K, Dooly S. Roles of TGF-beta in hepatic fibrosis. *Front Biosci* 2002; 7: D793–807.
- [35] Powell EH, Edwards-Smith CJ, Clouston AD, Crawford DH, Shorthouse C, Purdie DM, Jonsson JR. Host Genetic Factors Influence Disease Progression in Chronic Hepatitis C. *Hepatology* 2000; 31(4): 828–33.
- [36] Forrest EH, Thornburn D, Spence E, Oien KA, Inglis G, Smith CA, McCrudden EA, Fox R, Mills PR. Polymorphisms of the renin-angiotensin system and the severity of fibrosis in chronic hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 2005; 12(5): 519–24.
- [37] Okamoto K, Mimura K, Murawaki Y, Yuasa I. Association of functional gene polymorphisms of matrix metalloproteinase (MMP)-1, MMP-3 and MMP-9 with the progression of chronic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 1102–1108.
- [38] Isomaa B. A major health hazard: the metabolic syndrome. *Life Sci* 2003; 73: 2395–411.
- [39] Sorrentino P, Tarantino G, Conca P et al. Silent non-alcoholic fatty liver disease—a clinical-histology study. *J Hepatol* 2004; 41: 751–7.
- [40] Bugianesi E, Leone N, Vanni E et al. Expanding the natural history of nonalcoholic steatohepatitis: from cryptogenic cirrhosis to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2002; 123: 134–40.
- [41] Wanless IR, Lents JS. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy study with analysis of risk factors. *Hepatology* 1990; 12: 1106–10.
- [42] Adams LA, Sanderson S, Lindor KD, Angulo P. The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies. *J Hepatol* 2005; 42: 132–8.
- [43] Adinolfi LE, Durante Mangoni E, Zampino R, Ruggiero G. Review article: hepatitis C virus associated steatosis-pathogenetic mechanisms and clinical implications. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22(Suppl 2): 32–35.
- [44] Sanyal AJ. Review article: non-alcoholic fatty liver disease and hepatitis C-risk factors and clinical implications. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22 (Suppl 2):48–51.
- [45] Reynaert H, Geerts A, Henrion J. Review article: the treatment of non-alcoholic steatohepatitis with thiazolidinediones. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22: 897–903.
- [46] Shan Y, Lambrecht RW, Bonkovsky H. Association of Hepatitis C Virus Infection with Serum Iron Status: Analysis of Data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *CID* 2005; 40: 834–41.
- [47] Bacon BR, Olynyk JK, Brunt EM et al. HFE genotype in patients with hemochromatosis and other liver diseases. *Ann Intern Med* 1999; 130: 935.
- [48] Smith BC, Grove J, Guzail M et al. Heterozygosity for hereditary hemochromatosis is associated with more fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 1998; 27: 1695–99.
- [49] Hofer H, Osterreicher C, Jessner W, Penz M, Steindl-Munda P, Wrba F, Ferenci P. Hepatic iron concentration does not predict response to standard and pegylated-IFN/ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2004; 40(6): 1018–22.